合同開催

第35回　生理学技術研究会
第24回　生物学技術研究会

予 稿 集

日時：平成25年　2月21日（木）、22日（金）

会場：岡崎コンファレンスセンター

大学共同利用機関法人　自然科学研究機構
生理学研究所　技術課
基礎生物学研究所　技術課

第35回 生理学技術研究会
（同時開催：第9回 奨励研究採択課題技術シンポジウム）
第24回 生物学技術研究会

会期：平成２５年２月２１日（木）～ ２２日（金）
会場：自然科学研究機構　岡崎コンファレンスセンター
主催：生理学研究所　技術課

〒444-8585　愛知県岡崎市明大寺町字西郷中３８
http://www.nips.ac.jp/giken/
TEL：(0564) 55-7702, FAX：(0564) 52-7913

基礎生物学研究所　技術課

〒444-8585　愛知県岡崎市明大寺町字西郷中３８
http://techdiv nibb.ac.jp/
TEL：(0564) 55-7655, FAX：(0564) 55-7657

プ ロ グ ラ ム

２月２１日（木）（１階 大会議室）

13:30	～	13:50	挨拶、事務連絡
13:50	～	14:50	研修講演（L１：生理学研究所　脳機能計測・支援センター 多光子顕微鏡室　村越 秀治　准教授）
14:50	～	15:20	記念撮影、休憩
15:20	～	16:25	ポスター発表グループⅠ［P1、P3、P5、・・・：奇数番号］
16:25	～	17:30	ポスター発表グループⅡ［P2、P4、P6、・・・：偶数番号］
17:30	～	17:50	自由討論
18:00	～	20:00	懇親会（１階 中会議室）

２月２２日（金）（１階 大会議室、１階 中会議室）

（口演会場１　１階 大会議室）

8:50	～	9:00	挨拶、事務連絡
9:00	～	10:20	奨励研究採択課題技術シンポジウム（Ｓ１～４）
10:20	～	10:40	休　憩
10:40	～	12:00	奨励研究採択課題技術シンポジウム（Ｓ５～８）
12:00	～	13:00	昼　食（１階　中会議室・小会議室）
13:00	～	14:20	奨励研究採択課題技術シンポジウム（Ｓ９～１２）
14:20	～	14:30	まとめ

（口演会場２　１階 中会議室）

8:50	～	9:00	挨拶、事務連絡
9:00	～	10:20	口演発表（Ａ１～４）
10:20	～	10:40	休　憩
10:40	～	12:00	口演発表（Ａ５～８）
12:00	～	13:00	昼　食（１階　中会議室・小会議室）
13:00	～	14:20	口演発表（Ａ９～１２）
14:20	～	14:30	まとめ

目 次

研修講演（１階　大会議室）

奨励研究採択課題技術シンポジウム（１階　大会議室）

口演発表（１階　中会議室）

ポスター発表（１階　大会議室、ホワイエ）

参加者へのお願い

■会場について

研究会会場は岡崎コンファレンスセンター(以下 OCC)です。会場については、研究会会場周辺地図および岡崎コンファレンスセンター案内図をご覧ください。

■受付について

受付は、 一日目の 13:00～13:30 の間、OCC エントランスホールにて行いますので、名札と資料をお取りください。遅れる場合は事前に連絡をお願いします。研究会当日は OCC 事務室（TEL: 0564-57-1870）までご連絡ください。

■旅費支給者の方へ

航空機利用の場合、領収書と航空チケットの半券（半券が無い場合には搭乗券）をお持ちください。
帰りの分は、後日郵送してください。

■手荷物について

研究会の間、手荷物はお預かりいたしません。大会議室後方に荷物置場を設置いたしますのでご利用ください。貴重品等については各自の責任でお願いします。

■懇親会参加者へ

一日目の発表終了後、OCC 中会議室で懇親会を開きます。

■記念記帳について

研究会の期間中、参加記念帳を大会議室入り口付近に置きますので、都合を見てご記帳ください。

■記念撮影について

研究会開催中に全体での記念写真撮影を行います。日時等はプログラムをご覧ください。

■入構について

研究会受付にてお渡しする名札が入構許可証となります。受付以前に機構内に入られる方は、正門横の守衛室にて氏名・所属等を記載し、入構手続きを行ってください。

■駐車場について

研究所および OCC には一般利用駐車場がありませんので、公共交通機関をご利用ください。

■宿泊について

ご自身で宿泊を確保される方は、研究会会場周辺地図をご覧ください。

■ロッジ宿泊者へ

ロッジ利用時間は午後３時からです。また、門限は午後１０時です。門限に間に合わなかった場合は、貸与された各室の鍵で玄関の鍵を開けて入館し、その後鍵を掛けてください。退館（チェックアウト）に際して、必ず部屋の鍵を玄関の「鍵返却ポスト」に返却してください。なお、退館時間は午前９時３０分までです。

■ご不明な点がありましたら

生理学研究所 技術課　(TEL: 0564-55-7702, FAX: 0564-52-7913) または
基礎生物学研究所 技術課 (TEL: 0564-55-7655, FAX: 0564-55-7657) までご連絡ください。

発表者へのお願い

■報告誌原稿の提出について

報告誌原稿は、本研究会で用意した「テンプレートファイル」を使用してください。本研究会ホームページ（ http://www.nips.ac.jp/giken/2013/ 又は http://techdiv.nibb.ac.jp/giken/ ）よりダウンロードが可能です。

原稿は、平成２５年２月１８日（月）までに、Word File と PDF File を指定されたメールアドレスへ添付にて送付してください。 PDF File はレイアウト等の確認のために使用します。

■発表について

1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用の画像は一人１枚で、発表時間は１分間を予定しています（画像は事前に指定の方法でご提出をお願いします）。発表は２グループに分けて行います。グループⅠのスライド説明とポスターの閲覧および討論を行った後、グループⅡを同様に行います。
2. 口演発表は２０分（発表１５分、質疑応答５分）、奨励研究採択課題技術シンポジウムは２０分（発表１５分、質疑応答５分）です。十分な質疑応答の時間が取れるよう、発表をまとめてください。
3. ポスター発表者は、13:30 までにポスターを展示してください。なおポスターは、研究会終了まで展示をお願いします。
4. 発表内容の補足で用いる配布資料がある場合は、各自で準備をお願いします。

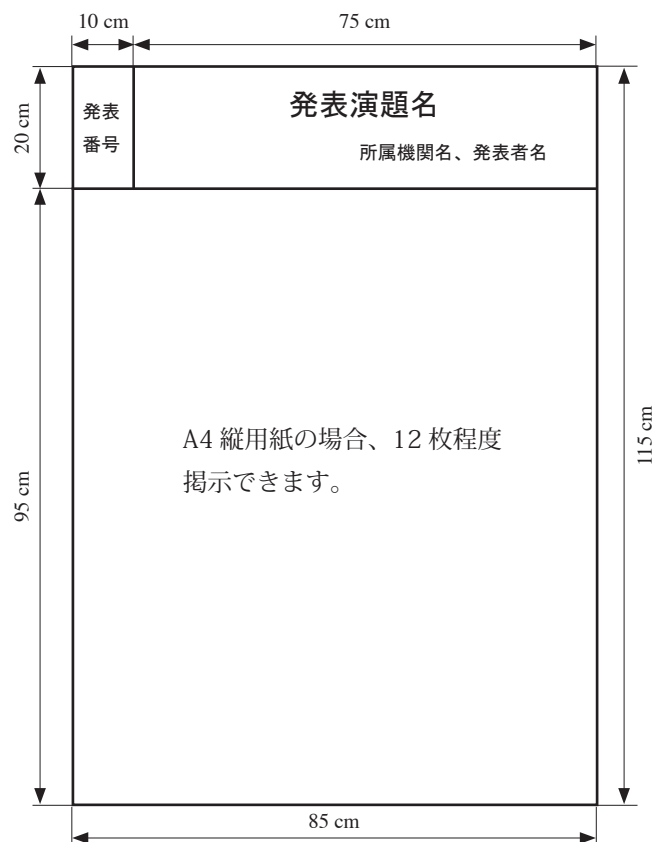
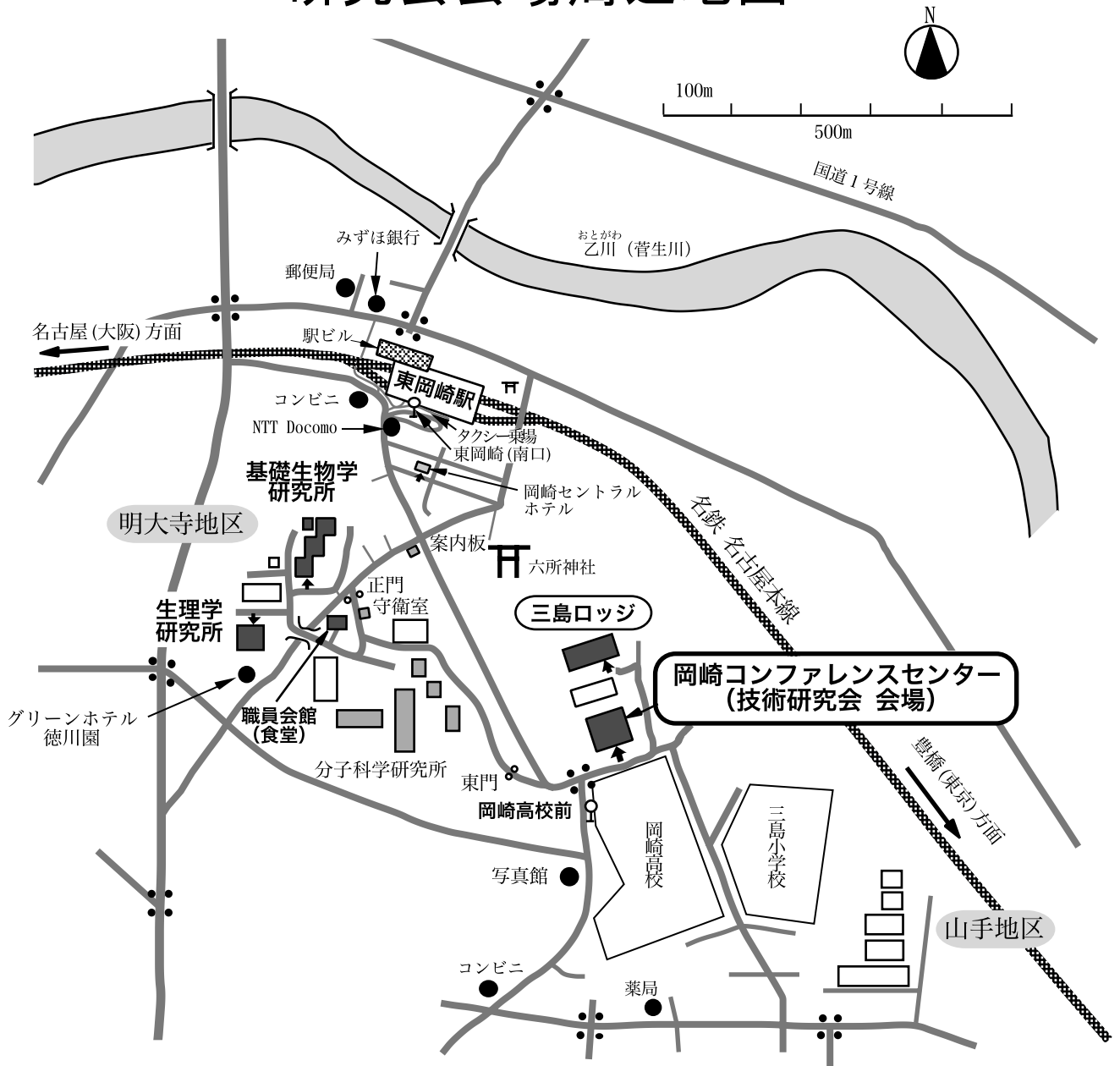
■ポスター作成について

ポスターは１演題につき１枚です。
サイズは縦 115 cm×横 85 cm　縦長です。
上部 20 cm に演題名、所属機関名、発表者名を右図の様に記入してください。

パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■ご不明な点がありましたら、以下へお問い合わせください。

・生理学研究所　技術課
　giken35@nips.ac.jp

・基礎生物学研究所　技術課
　giken@nibb.ac.jp

研究会会場周辺地図

◆ **東岡崎駅から「岡崎コンファレンスセンター」までは徒歩で10～15分程度です（ほとんど上り坂）**

タクシー乗り場とバス停は、ともに東岡崎駅の南側にあります。

バスは「竜美丘循環線、のりば 東岡崎駅 南口11番、おりば 岡崎高校前」

東岡崎 → 岡崎高校前：始発 6:45、最終22:55、岡崎高校前 → 東岡崎：始発 6:27、最終23:12

運賃 120円、7,8時台は1時間に6本、9～15時台は1時間に2本、16～22時台は1時間に4本です。

行き先	発	着	発	着	発	着	発	着
竜美丘	8:25 →	8:27	8:45 →	8:47	11:25 →	11:27	12:23 →	12:25
	8:35 →	8:37	8:55 →	8:57	11:55 →	11:57	12:53 →	12:55

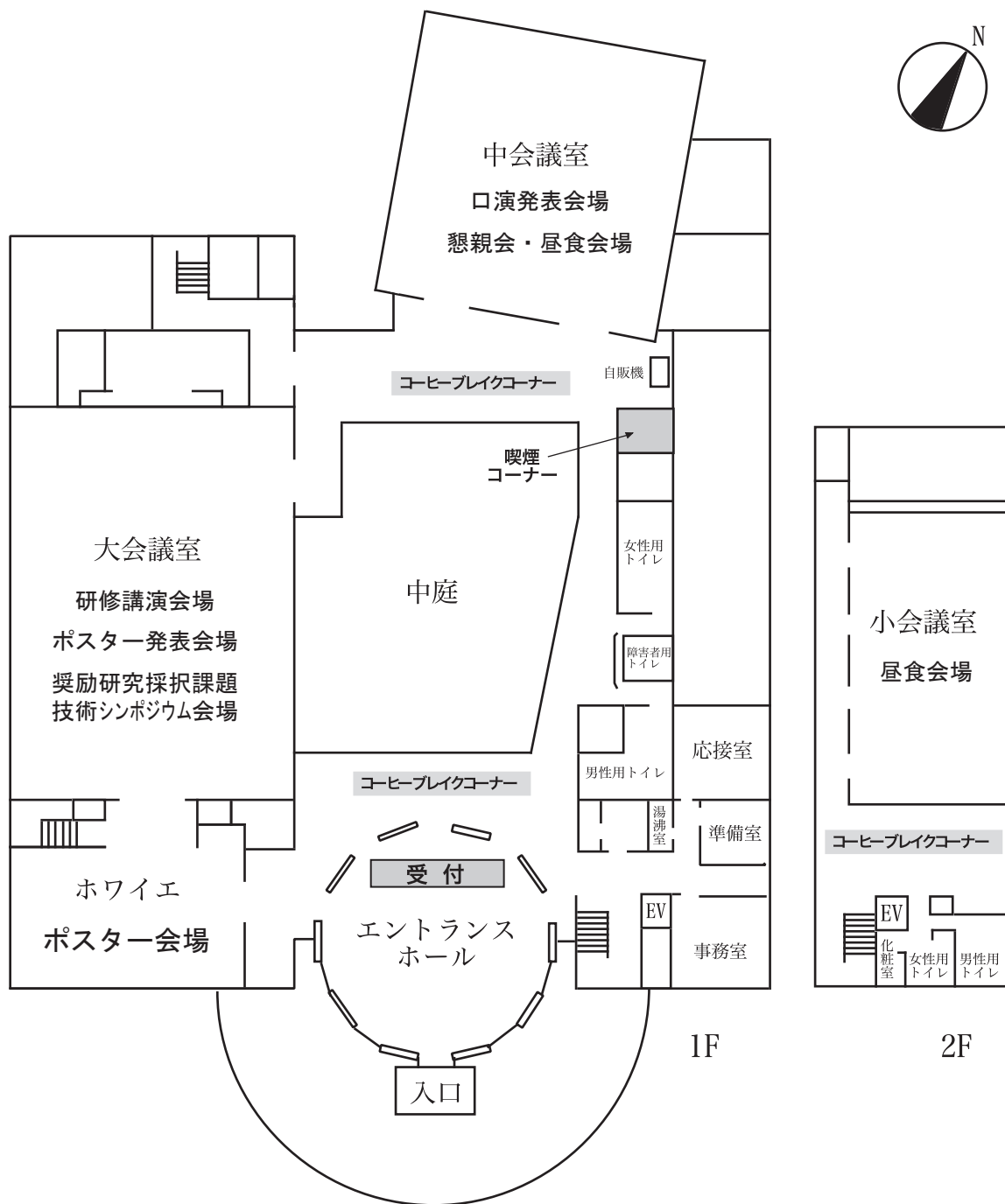
◆ **宿泊連絡先（参考）**

三島ロッジ TEL：0564-51-2830 （22～8時は不通）

岡崎セントラルホテル	TEL：0564-51-2830	岡崎シングルホテル	TEL：0564-21-1088
グリーンホテル徳川園	TEL：0564-53-3151	スーパーホテル岡崎	TEL：0564-28-9000
岡崎ニューグランドホテル	TEL：0564-21-5111	岡崎第一ホテル	TEL：0564-26-3111

◆**会場連絡先**

岡崎コンファレンスセンター　TEL：0564-57-1870

岡崎コンファレンスセンター案内図

【会場案内】

1日目

研修講演	大会議室
ポスター説明	大会議室
ポスター発表	大会議室前ホワイエ
懇親会	中会議室

2日目

生理学技術研究会主催

奨励研究採択課題技術シンポジウム	大会議室

生物学技術研究会主催

口演発表	中会議室
昼食会場	中会議室 ・ 小会議室

研 修 講 演

L1

神経回路形成機構を紐解くための可視化･操作技術
－2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法－

生理学研究所 脳機能計測・支援センター 多光子顕微鏡室　村越 秀治

脳には、約１兆個ものニューロンと呼ばれる電気的な活動を行う細胞があります。ニューロンは、シナプスという特殊な構造を介して、お互いに影響しあっており、ネットワークを構成しています。また、脳神経系の大きな特徴は、入力に応じてその機能を可塑的に変えることで、特に、シナプス結合の可塑性は、脳による学習、記憶の基礎となる重要な細胞現象であると考えられています。脳のほとんどのニューロンは、細胞体から、沢山の樹状突起と、1 本の軸索が延びた、非対称な構造になっていて、樹状突起は、電気情報や化学物質を受け取る入力側であり、軸索は出力側となっています。樹状突起は枝分かれして、他のニューロンの軸索と結合しており、樹状突起と軸索の結合してる部分がシナプス（Synapse)です。中枢神経系の興奮性シナプスにおいて、後シナプスは、マッシュルームのような形をした直径 0.5 µm 程度の突起になっており、この構造をスパイン（棘突起）と呼びます。記憶学習の基盤となるシナプス可塑性は、スパイン内部の分子によるシグナル伝達によって発生すると考えられています。この過程には、タンパク質分子の活性や神経伝達物質放出の制御、シナプスの形態の動的な変化が関わっていることが明らかになってきていますが、その分子機構はほとんど解明されていません。これは従来の生化学的方法のように多数の細胞からの平均値のシグナルを調べるだけでは個々のシナプス内で何が起こっているかを調べることは不可能だったからです。しかし、最近、２光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法を用いることで、神経細胞が神経ネットワーク構造を保ったままで、シナプスの形態変化とシグナル分子の活性化や会合を単一シナプスレベルで同時に捉えることが可能になり、シナプス可塑性の分子的な仕組みを詳細に調べることが可能になりつつあります。実際に、この顕微鏡を用いることで、シナプス結合の増強や収縮にともない、1 個のスパインの大きさも増大、縮小することが観察できます。また、スパインの内部では様々なタンパク質がダイナミックに局在を変えたり構造変化を起こすことでシナプスの可塑的変化を維持していることも見えてきました。本研修会では２光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法と実際に得られた実験結果について紹介させて頂きます。

口 演 発 表

（奨励研究採択課題技術シンポジウム）

【22日　9：0～】

S1

公的研究費による研究成果の発信とアウトリーチの理解と意識向上への取組み

山口大学 工学部　岡田 秀希

【目的】

近年、科研費など公的研究費による成果を積極的に社会・国民に発信することが強く求められている。そんな中、外部資金によるアウトリーチの実践として、「ひらめき☆ときめきサイエンス（日本学術振興会）」に取り組んできた。また、地域に根ざしたアウトリーチ活動の様々なケースを過去の経験を元にモデル化し、研究成果発信の意義や社会の要請に関する理解の促進と意識向上を目指した研究者向けガイドを作成した。

【方法】

自身で開発に携わった視覚障害者向けの機器(1)(2)について、実機の試用を含む体験型のワークショップを企画立案し、外部資金の補助（平成 22、24 年度）を受けて実施した。平成 22 年度のプログラム実施において､その内容については科学コミュニケーション活動で蓄積した資産とノウハウを活かすことで参加者から高い満足度が得られたものの、事前の受講生の募集方法に課題が残った。今年度のプログラムでは、通年実施している科学教室や地域のイベント出展の機会を、参加者募集など広報の場として活用した。

アウトリーチの実施に際しては、発信の場の設定が大きな課題となる。そこで、過去の科学教室等の実績を分類し、想定する研究成果の技術分野と小中学校の理科単元とのマッチングを含め、地域に根ざしたアウトリーチのモデル化を念頭に各種情報を整理した。企画にあたっては、対象となる地域社会（個人や団体）と研究者の双方にメリットがあるよう配慮・調整することが重要である。

【結果】

地道ながら継続的な広報活動に変更したことで、実施スケジュールに合わせた募集定員の充足と、参加者の居住市町の大幅なエリア拡大および同伴者の増加となった。

【考察】

「ひらめき☆ときめきサンエンス」については、今後も定期的に実施することで、恒例のイベントとして地域に定着させたい。一方、出前科学教室を活用した草の根レベルのアウトリーチ活動については、実践を積み重ねて文化的な醸成を目指す。

【参考文献・資料】

(1) 岡田秀希、坂田由美子 (2010) “理科実験で用いる触読式の電流・電圧計の開発”弱視教育、第48巻 第2号、pp.7-11
(2) 岡田秀希 (2006) “多機能白杖”、公開特許公報（特開 2006-204667）

S2

寝たきりにならないための運動機能強化マシンの開発

徳島大学 大学院STS研究部 情報システム技術分野　石田 富士雄

【目的】高齢者の場合，内臓疾患などの病気に罹り入院治療になると，無事病気を克服しても，気力や筋力の低下により運動機能が低下し，寝たきりになるケースが少なくない。また，今後高齢者の占める割合も増える傾向にあり，ますます寝たきりになる人が増えることが予想される。病気が治癒すれば身の回りのことができたり，社会復帰ができたりするのが望ましい。そこで，寝たきりになる人が一人でも少なくなるように，病気の回復期において運動機能が低下しないように，運動機能の維持・強化を行う装置を開発する。

【方法】運動機能の維持・強化を行う装置は，脚部，腕部の部位に分けて，寝た状態で運動できるものを試作した。これらの装置は，あくまでも術後からリハビリまでのつなぎとして行う軽微な運動であり，スポーツ選手が筋力を鍛えるような目的のものでない。

(1)脚部の運動装置

この運動装置は，ステッピングモータとボールネジを組み合わせた1軸方向の駆動装置を使用して，脚部の突っ張り動作の補助をする。また脚部の曲げ延ばし運動には，運動速度と運動距離を可変にし，その速度に合わせたリズム音を発する機能をもたせる。これらの速度と距離は，LCD表示装置にメニューを含めてボタン操作で設定値を表示する。

(2)腕部の運動装置

これも上記同様，1軸方向にテーブルが移動する駆動装置を使い，腕部の上げ下げ動作の補助をする。また移動速度の可変とリズムを付加して運動意識を高める工夫をした。

【結果】脚部，腕部の運動装置では，マイコンの電源をONするとLCD表示装置に設計した様々なメニューが表示されるのを確認した。また，メニューを見ながらボタンスイッチを押して行いたい運動の選択や，距離や速度の設定変更をして，所定の運動ができるのを確認した。動作途中においても，距離や速度の変更ができるのも確認した。また，運動の動作速度により一定のリズム音を発するので,「今何をしているか」の運動への意識付けがあり，装置の動きに任せる場合，自分の意志による場合の双方で，脚部，腕部の筋肉の刺激に一定の効果があると考える。

【考察】今後は,各装置から得られる情報をマイコン-パソコン間無線通信によりパソコンに蓄積し,被験者の運動状態をグラフィカルに表示し,システムを完成させる予定である。

【参考文献・資料】

本学技術発表会,「マイコン-パソコン間無線通信の性能評価」2012.9

S3

Kinect センサによる小型実験動物の三次元行動測定システムの開発

宮崎大学 工学部 教育研究支援技術センター　長友 敏

【目的】医薬品や食品の開発において、マウスやラット等の小動物を用いた評価は重要な評価方法の１つである。その評価方法とは、動物の行動を観察することにより薬品や食品が小動物に与える効果を検証する評価方法である。そのためには、長時間の観察が必要となり、ビデオカメラ等を用いて撮影し、撮影後に画像処理や人間の目により動きを検証するのが一般的である。特に三次元解析システムの開発については、解析方法が複雑となる。例として、動く対象を計測することが可能な三次元計測法であるステレオ法で計測した場合、複数のカメラで撮影し、複数のカメラ間の計測点の対応を取る必要があり非常に複雑となる。現在、動物の行動軌跡を計測するシステムは、二次元（XY）での計測評価が主体となっているが、本研究では、ゲーム機のセンサとして開発、公開されている Kinect センサを用いて動物の三次元データ（XYZ）取得することで、「汎用性の高い低コストの実験動物の三次元行動解析システムを開発する」ことを目的とする。

【方法】本研究では、下記の３点を検証し小型実験動物の三次元計測システムを構築した。
１．Kinect センサの仕組みである距離センサにより近赤外線光を照射・受信し、瞬時に三次元座標を取得可能である特徴が、本計測システムへ応用できることを検証した。
２．Kinect センサに搭載されている赤外線カメラで、夜間の計測環境状況を検証した。
３．計測システムの設計に関しては、ソフトウェアは OpenNI 制御ライブラリにて Kinect センサを制御し、OpenCV 画像処理ライブラリで画像処理をおこなうシステムを構築した。

【結果】本計測システムへの Kinect センサの応用について、距離センサの奥行方向の受信範囲が約 800 ㎜で受信されたことを確認した。Kinect センサの計測精度を確認し、単体での三次元空間の自動追跡を可能とした。また、夜間の計測を実施するため、赤外線カメラの映像で画像処理をおこない計測可能であることを確認した。

【考察】今後、動物実験に入り、実用可能であるかの検討をおこなう。また、少しでも近距離の計測を実現し、画像領域を拡大し計測精度を更に向上させる必要がある。

【22日　：0～】

S4

小動物用 SPECT/CT を用いたイメージング技術の確立

熊本大学生命資源研究・支援センター アイソトープ総合施設　白石 善興

【目的】小動物用 SPECT/CT 装置は、動物の生体情報を生きたまま分子・細胞レベルで画像化でき、疾患のメカニズムや病態の解明あるいは創薬の研究開発などの分野で有力な実験手法となりつつある。しかし、高精密な装置自体は高精度を要求されるために、使い方も複雑で性能維持のためのメンテナンスが必要となる。また、一般に専属のオペレーターの常駐も困難であるため、不慣れな利用者がトラブルを生じないためにも装置の使用方法についてマニュアル化は必須である。本研究の目的は、「われわれが以前から行っている放射線抗体療法をモデル実験としてこの装置を使用した一連の実験動物イメージング技術のプロトコールを確立することと同時に、使用手順化のマニュアルを整備して一般の利用者のために汎用実験プロトコール体系を構築すること」であるが、今回は小動物用 SPECT/CT 装置の性能評価とその有用性について調べたので報告する。

【方法】今回当ＲＩ施設へ導入された小動物用 SPECT/CT 装置は、GM-I 社製 FX3300 プレクリニカルイメージングシステムで､ガンマ線 SPECT と X 線 CT の２つの撮像モダリティから構成されている。SPECT は、CZT 半導体検出器による対向２検出器型ガンマカメラを用い、コリメータはシングルピンホール(直径１㎜､マウス用)､５穴マルチピンホール(直径１㎜、マウス用とラット用)および高分解能パラレルホールコリメータが選択できる｡X 線 CT は、超高分解能用 X 線管(30 μm)の搭載により、直径 90 mm、長さ 90 mm の視野を最速１分でコーンビームスキャンが可能である。本研究に着手する事前準備として、まず、空間分解能測定用ファントムおよびマウスの Tc-99m 過テクネチウム酸ナトリウムによる SPECT とマウスの X 線 CT を撮像し、本装置の性能評価を行った。

【結果】空間分解能ファントムの SPECT イメージよりシングルピンホールの空間分解能は 0.6 ㎜程度で、マルチピンホールでは 0.8 ㎜が識別できた。Tc-99m によるマウスの SPECT イメージでは、甲状腺や膀胱への集積状態が明瞭に描出できた。さらに、X 線 CT イメージとの重ね合わせ画像では､RI 集積臓器や組織の機能と微細な形態との同時情報の解析が容易になることがわかった。

【考察】今回の結果より、本 SPECT/CT 装置は、生きた小動物に対して高分解能 SPECT による機能的情報へ高精細 X 線 CT による解剖学的情報を簡単に融合できることがわかった｡また以前われわれはＩ-131 化合物を投与したマウスを臨床用ガンマカメラで撮像したが、そのイメージと比較して格段に高精細な画像を得ることができた。従って、われわれが目指す放射線抗体療法や新薬の開発などの前臨床試験研究が可能となり、非常に有用性の高い撮像技術になると考えられる｡次のステップとしては､腫瘍細胞に特異的に接着するＩ-131 標識抗体を作成し、悪性リンパ腫モデルマウスに対する治療効果を経時観察するための SPECT/CT イメージング実験プロトコールを確立する予定である。

S5

色素後添加電極ホルダーの開発

理化学研究所 脳科学総合研究センター 行動神経生理学研究チーム　松元 崇

【目的】

新皮質の単一神経細胞活動の樹状突起活動を高い信号雑音 (S/N)比で記録することは樹状突起活動の情報を精査するのに役立つ。In vivo 大脳皮質深部の神経活動は蛍光色素を使って観測することができる。ホールセルパッチクランプ法を使用した従来の色素注入方法は､ガラス電極が皮質深部の細胞に到達するまでに蛍光色素が細胞外に分散してしまう。分散された色素は、細胞周囲のバックグラウンドをあげるので、対象細胞樹状突起の蛍光強度変化を観測する時にノイズの原因になる。樹状突起活動の S/N の良い記録のためにはこのノイズの問題を解決する必要がある。

この問題は、最初に色素を含まない電極内液を電極先端に入れホールセルパッチ後色素入りの内液を電極先端に入れれば解決される。

そこで本研究では、ガラス電極内側の内液を極細管を使用して色素を含まない電極内液から色素を含む電極内液に交換し、単一神経細胞のみに色素を充填する色素注入ホルダーを開発した。

【方法と結果】

標本は、マウスの急性切片スライスを使用し、１次体性感覚野５層錐体細胞にパッチクランプ法を利用し（電極抵抗 5-７ MΩ)、蛍光色素 Oregon Green BAPTA-1 (OGB-1)を充填した。開発した方法を使用し任意の蛍光色素濃度を細胞に注入できるかを見積もった。まず既知濃度(10 , 25 , 50 μM)の OGB-1 を含む電極内液でホールセルパッチクランプを行い細胞に色素を充填した。細胞が１発発火を起こす電流を注入し細胞体の蛍光強度変化を計測した。色素を後から電極内液に加えた場合の蛍光強度変化と既知濃度の蛍光強度変化を比較し、色素を後から電極内液に加えた場合の色素濃度制御の正確さを評価した。

【考察】

本方法は電極内液に溶解する蛍光色素以外の薬物を細胞外に吹きかける事無く単一細胞内に注入することができる可能性がある。

【参考文献・資料】

Murayama M, Miyazaki K, Kudo Y, Miyakawa H, and Inoue M: "Optical monitoring of progressive synchronization in dentate granule cells during population burst activities.", Eur J Neurosci, 21(12), 3349-60 (2005)

S6

マウス精巣上体尾部の冷蔵輸送に関する研究

国立大学法人旭川医科大学教育推進センター技術支援部・動物実験技術支援部門
清水 範彦，早川 寿行，中谷 和宏

熊本大学生命資源研究・支援センター動物資源開発研究部門（CARD）
中潟 直己，岩本 まり，高橋 郁，古波蔵 恵里，土山 修治，竹尾 透

九動株式会社
福本 紀代子，春口 幸恵，近藤 朋子，竹下 由美，中牟田 裕子，松永 寛子

【目的】現在、医学・薬学研究の有効な動物モデルとして、膨大な遺伝子改変マウスが作製され、これらの授受が盛んに行われている。しかし、遺伝子改変マウスそのものの輸送は、1）輸送コストが高額であること（5～10 万円）2）輸送中に逃亡・死亡するなどの問題点があること（カルタヘナ法の問題）3）病原微生物感染事故が起こる可能性があること等、問題点が多く存在しているのも事実である。これらの問題の解決法として、近年、マウス個体の輸送ではなく､凍結胚あるいは冷蔵胚での輸送が頻繁に行われるようになった。しかし、さらに簡便な方法として、精巣上体尾部の輸送が可能となれば、上記の問題点を解決するのみならず、片方の精巣上体尾部を外科的に摘出することで、マウスを必ずしも安楽死する必要がないため､動物福祉の観点からも極めて有効的な方法であると思われる。そこで、私たちはマウス精巣上体尾部の冷蔵輸送を試み、若干の知見が得られたので報告する。

【方法】成熟雄マウスの精巣上体尾部を摘出、冷蔵保存液の入ったエッペンチューブに浸漬、紙箱に収容した後、魔法瓶に充填した。また、輸送箱としての発泡スチロール箱内は保冷剤を用いて冷却し（8℃）、旭川⇒熊本への冷蔵宅配輸送を行った。

また、その輸送時の温度変化はボタン型温度記録計にて計測した。

【結果】冷蔵輸送した精巣上体尾部より、採取した精子を用い、体外受精を行った結果、受精率は 84%と通常の体外受精と有意な差が見られない結果が得られた。また、得られた 2 細胞期胚の 4-8 細胞期、桑実胚期、胚盤胞期への発生率は、それぞれ、100%、98%、91%であった。また、胚移植により、移植胚の 50%にあたる 60 匹の産仔が得られた。

【考察】以上の結果より、本精巣上体尾部の冷蔵輸送法は凍結あるいは冷蔵胚の輸送に比べ、安価であること、貴重な遺伝子改変動物を安楽死に至らしめないことなどの利点があることから、今後の遺伝子改変マウスの輸送法として画期的な方法と成りうるものと考えられる。

S7

蛍光タンパク質を用いたスプライシングレポーターの改良

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 遺伝子発現制御研究室　渡邉 要平

【目的】発表者が所属する研究室では、複数の蛍光タンパク質を用いて選択的スプライシングパターンを生体内で可視化するスプライシングレポーター系を開発した。レポーターミニ遺伝子では、蛍光タンパク質の上流に選択的スプライシングを受けるゲノムDNA断片を挿入してあり、特定のスプライシングパターンの時に蛍光タンパク質を発現する。しかし、レポーターより発現した蛍光タンパク質は、挿入したDNA断片由来のタンパク質との融合タンパク質であるため、接続したこのタンパク質の性質に影響を受けて蛍光や細胞内局在や安定性が損なわれることが多く、問題となっている。そこで、本研究は、上流のDNA断片の影響を受けにくいスプライシングレポーターの開発を目的とする。

【方法】**①ポリペプチドリンカーの挿入：**スプライシングレポーターから発現する蛍光タンパク質のフォールディングが上流のアミノ酸配列の影響を受けにくくなるように、蛍光タンパク質のN末端側にGly-Gly-Ser(GGS)の 6 回繰り返しアミノ酸配列からなるリンカーを挿入したレポーターを作製した。

②2A様配列による蛍光タンパク質の切断：　ピコルナウイルスやその他のウイルスの 2A ペプチドは宿主細胞での翻訳中に自己切断することが知られており、複数のタンパク質を等量ずつ発現するためのベクター系に利用されている。そこで、2A様配列による切断がスプライシングレポーターの改良に利用できるか検討するために、蛍光タンパク質のN末端側に 2A様配列を挿入したミニ遺伝子を作製した。

これらのミニ遺伝子の作製にはGATEWAYシステムによる相同組換えを用いた。

【結果】**①ポリペプチドリンカーの挿入：**ポリペプチドリンカーを用いた蛍光スプライシングレポーター線虫を多数作製し、多くの場合、リンカーがうまく機能していることを確認した。

②2A様配列による蛍光タンパク質の切断： 2 種類の蛍光タンパク質の間に 2A様配列を挿入したミニ遺伝子を線虫及び培養細胞に導入し、2 種類の蛍光タンパク質の発現を確認した。さらに蛍光タンパク質抗体を用いたウェスタンブロティングにより 2A様配列による切断が線虫でも哺乳類培養細胞でも起こっていることを確認した。現在、スプライシングレポーターミニ遺伝子に 2A様配列を挿入して、2A様配列による切断が翻訳フレームを維持してスプライシングパターンのモニターに利用できるか確認中である。

【考察】GGS リンカーの挿入は多くの場合、実用上うまく機能しているが、蛍光タンパク質があまり発現しなかったスプライシングレポーターミニ遺伝子について、今後は、2A様配列を用いたレポーターで蛍光タンパク質発現が改善されるかを検討する予定である。

【参考文献・資料】Kuroyanagi,H.et al.Nat Protoc.5,1495-1517(2010).

S8

インビボ脳血管・血流イメージング法の確立

生理学研究所 技術課　吉友 美樹

脳内においては、脳血管へ酸素を運搬するための血流量や、血管自身の拡張や収縮と脳内の神経活動との間には密接な関係があると言われている。しかし、脳血管や脳血流の検定には解像度の技術的な制約があり、微小血管の収縮・拡張や血流測定を行うことは困難であった。また、血管の動態の調節機構や作動薬の研究は、脳から取り出した脳血管標本を用いたり、大きな動脈などにおける結果を脳血管全般のルールとして適応し推測することが主に行われてきた。そのため、in vitro 実験系での有効と、in vivo での効果の解離がしばしば観察されている。この問題点を解決するためには、生きた動物において、脳内の大きな血管から毛細血管まで可視化するとともに、これらの血管における血流を同時に評価出来る技術の開発が不可欠である。

近年、革新的非線形光学系である2光子励起レーザー顕微鏡（以下、２光子顕微鏡と略す）の生体応用によって、脳などの組織内に微細構造をサブミクロンレベルの解像度で観察することが出来るようになった。本研究では、この生体2光子顕微鏡技術の生体応用技術を改良し、脳内の血管、および血流イメージング技術を確立・高度化するとともに、評価のための最適な薬液投与法の確立するための検討を行った。

実験には、マウス（C57BL/6J♂6～12 週齢）を用い、以下の方法で行う。

１．　麻酔下のマウス頭蓋骨表面を削り、観察用のチャンバーを取り付ける。

２．　マウスを固定装置に乗せ、尾静脈などから目的の薬液（蛍光色素）を投与する。

３．　２光子顕微鏡下で、血管の動態を観察・記録する。また、血管拡張・収縮薬などは、脳表面に滴下し、この場合の血管の動態も観察する。

本課題における検討事項は、以下のとおりである。

1,血管イメージング：２光子顕微鏡によるマウス脳血管の可視化の検討。

末梢血管内に Di-I 等の親脂質性の蛍光物質を投与し、脳血管壁を染色し、脳内の微小血管から大きな動静脈の広範囲の可視化を行う。Di-I による染色性は長期間維持することが可能であるため、脳血管収縮・拡張作動薬の効果について、各種サイズの血管において、同一動物で観察する。

2, 血流イメージング：血管へ水溶性蛍光色素を投与し、色素の脳血管への血流測定

２光子顕微鏡観察下で、末梢静脈に水溶性蛍光色素(SR101 など)を短時間で投与し、蛍光色素の脳血管への流入および蛍光の消失速度を計算することにより、大きな血管から微細血管における血流速度を推測する。

これらのことを踏まえ、今回は、実験の技術的苦労話、失敗談なども交えて、検討結果について報告したい。

S9

生体信号計測における
簡易かつ再現性のよい皮膚前処理方法の新提案

秋田大学大学院工学資源学研究科技術部電気電子情報系　高橋 圭太

【目的】生体信号計測において電極貼り付け前に皮膚の前処理を行い，皮膚接触抵抗を低下させることは重要である。皮膚接触抵抗を電極抵抗(約 5kΩ以下)程度に低下させることにより，皮膚＋電極抵抗(約 10kΩ)が計測器の内部抵抗(約 1MΩ)に対して十分小さいとみなせるため，計測データの信号対雑音比が向上する。ここで，皮膚の前処理方法に着目すると，皮膚を強くこすり角質を除去すると接触抵抗は 5kΩ程度まで低下する。つまり，皮膚接触抵抗は角質に依存していて，角質を機械的に除去するか，水分を含ませることで低下する。前者の角質を除去する方法は，被験者の角質の厚さ，および施工者の技術による個人差があり，何より角質を除去することは侵襲的であるため被験者の皮膚への負担となる。一方，後者の水分を含ませる方法は，非侵襲的であるため有用であると考えられる。

フォノフォレシスは超音波を用いた経皮吸収促進法であり，注射器を使用しないで非侵襲的に薬液を皮膚表面から体内に浸透させる技術の 1 つである[1]。この方法を応用して角質層に水分を含ませることが可能であれば，簡易で再現性がよく，非侵襲的な新しい皮膚前処理方法となることが期待できる。しかし，超音波処理後の皮膚バリアの障害や，角質層下の生きた細胞・組織への影響が懸念されており，実用化のためにはこれらの問題を解決する必要がある。

【方法】フォノフォレシスの皮膚前処理方法への応用の基礎実験として，(1)超音波処理の皮膚へ影響を明らかにするため，超音波パラメータ(周波数，強度，波形，照射時間，皮膚と振動子との距離)と皮膚の温度変化との関係の検討，(2)超音波処理と皮膚接触抵抗との関係を明らかにするため，超音波処理有り，無しの各場合で皮膚＋電極抵抗の計測を行い比較検討する。なお，以上の実験は，安全性を考慮して生体模擬ファントム(皮付き鶏肉等)を対象として行う。

【結果】鶏肉の皮上に食用色素溶液を塗布して，(1)3 分間放置，(2)超音波の出ていない振動子でマッサージして放置(合計 3 分間)，(3)超音波の出ている振動子でマッサージして放置(合計 3 分間)した後鶏肉を断面に切り，皮下組織への食用色素溶液の浸透を観察した。超音波は，超音波振動子(Aloka，UST-214B-2.25，2.25MHz)を方形波(5Vpp，2MHz，duty ratio:50%)で駆動して発生させた。結果，(3)の超音波処理後においても皮下組織への食用色素溶液の浸透が確認できなかった。

【考察】パワー，周波数，照射時間，皮膚と振動子との距離等について検討する。

【参考文献】[1]“Topical Absorption of Dermatological Products”, MARCEL DEKKER, INC., pp.335-351, 2001.

S10

高磁場 MRI による血液脳関門と血液腫瘍関門を理解するための三次元教材の作成

放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター　柴田 さやか

【目的】血液脳関門（BBB）は、血液と脳との間において物質交換を制限する機構であり、薬物動態の制御や副作用を検討する上でも重要な位置づけとなっている。一方、腫瘍では、血管と腫瘍細胞との間に間質系細胞の増加や繊維化による障壁を形成して薬物を阻むという現象が生じ、近年、血液腫瘍関門と言われている（Kano MR, PNAS, 2007)。このように、血液と組織との間における物質交換を制御する機構を生体内で理解することは重要であり、その機構を改変することで薬物効果を高め得る。

当研究では、生きたままの状態で 7T-MRI を用いて３次元的にマウスの MRI を測定、血管構造を含む脳の解剖学的構造を視覚的に分かりやすく説明できる３次元モデルによる教材の構築を目的とした。また、脳および腫瘍モデルに対して、挙動の異なる低分子 MR 造影剤およびナノ粒子 MR 造影剤を投与し、その動態を比較する。併せて、BBB を破綻させる手法を試み（Aoki I, MRM 48, 2002)、それらの造影剤の透過性の変化を観察した。

【方法】

(1) BALB/c nude マウスの正常脳、および colon26 細胞株（1x10^{6}個）皮下移植モデルを対象とした。正常な脳動脈の微細構造を描出するために、麻酔下のマウスに対し、高感度なナノ粒子造影剤（ガドリゾーム™、DS ファーマ、日本）を尾静脈投与し、７T-MRI（Bruker biospin）および高感度冷却コイルを用いて、50 µm の等方性ボクセルで 3D MR 血管造影（MRA）撮像法を実施した。同様に、腫瘍での動脈の微細構造を描出するために、移植後 10 日目のマウスにおいてナノ粒子造影剤を尾静脈から投与し、3D MRA を実施した。ガドリゾーム™は、約 100 nm 粒径のリポソームの表面に枝状に分岐したデンドリマーを付加、分岐先に多数のガドリニウム造影剤を付加することで、感度を高めている。また、冷却コイルはプリアンプとコイルを冷却し熱雑音を抑えることで感度が約 2.5 倍に向上した。

(2) BBB を破綻させるために、25% マンニトールをマウスの内頸動脈から投与した。透過性の変化を観察するために、低分子 MR 造影剤として 30mM 塩化マンガンを投与、７T-MRI にて T1W 撮影を行った。本研究は、マウスにおける BBB 破綻モデルとしては世界初となる。2.0%イソフルランガス麻酔下で、ポリエチレンチューブ（BD, PE10）をマウスの外径動脈から総頸動脈・内頸動脈分岐部へ向けて挿入し、そこから、マンニトールを投与し MRI を撮像した。

【結果と考察】

(1) 高感度なナノ粒子造影剤と高磁場 MRI および高感度コイルを組み合わせる事で、造影剤投与後の脳および皮下移植腫瘍の両方において、投与前には確認できなかった細動脈など、多くの血管の描出が３次元的に可能となり、教材を作成するための基盤となる３次元データモデルが取得できた。

(2) より安定かつ効率的に BBB を破綻させるために、頸動脈経由でのマンニトール投与法を検討した。投与量、投与回数を変えて実施した結果、マウス脳において、視床下部から皮質にかけて広い範囲で BBB の破綻を示す造影剤の取り込みが観察された。

今後、対象に脳の同所移植腫瘍モデルを加え、また BBB を破綻させる手法を腫瘍へも適用することで、ナノ粒子の動態がどのように変化するかを調べると共に、得られた３次元データから、効果的な視覚教材として取りまとめる。

S11

層特異マーカーを用いたマウス大脳皮質発生アトラスの作成およびweb上でのオンライン公開

神戸大学大学院医学研究科 生理学細胞生物学講座 神経発生学分野　崎浜 吉昭

【背景と目的】当研究室ではリーラーマウスや *dab-1* 変異ヨタリマウス等、大脳皮質の層構築異常を示す突然変異体を用いて大脳皮質の層形成機構を多角的に解析している。これらをサポートするため、近年多くの研究者により汎用されるようになった各種層特異マーカーの抗体を用いた脳連続薄切標本を作成した。これらをマウスの各日齢ごとに経時的にまとめ、ニューロンの発現パターンを比較検討するための基礎的データとして学生および研究者が広く利用できるようなマウス脳画像データベースの構築を試みた。　【方法】当研究室で系統維持しているリーラーマウスまたは *dab-1* 変異ヨタリマウスのヘテロ動物同士を交配し、得られた生後３週齢の正常およびホモ変異動物を 0.1 M PBS で脱血・4% PFA で灌流固定・脳摘出・30%Sucrose 侵漬後、脳の連続凍結浮遊切片に対し、大脳皮質層特異マーカーである Cux2 (II/III, IV 層)、Ctip2 (V, VI 層)、FoxP2 (VI 層)、Brn2 (II/III, V 層)の各抗体に対する免疫染色を ABC-DAB 法にて行った。なおシグナル増強を目的として浮遊切片は 10 mM クエン酸緩衝液(PH6.0)中でマイクロウェーブ 500W･2 分間の賦活化処理をした。各種層特異マーカーにより染色された標本は、顕微鏡 CCD カメラにてデジタル撮影し、ファイルメーカーVer.12 に取り込み、マウスの遺伝子型や染色に用いた抗体名・希釈倍率・各部位の名称・所見等の情報を入力の上、データベース化した。
【結果と考察】今回作成した各種層特異マーカーの染色態度は、マイクロウェーブ抗原賦活化により全てのマーカー抗体において増強傾向が見られ、鮮明な標本を得ることができた。また、リーラー・ヨタリマウスの層マーカー発現様式は、VI 層マーカーである Foxp2 が最表層に分布するなど、正常な「インサイド-アウト」を示さず「アウトサイド-イン」構造をある程度反映していたが、その他の層マーカーでは比較的大脳皮質の全層にわたって分布する傾向が見られるなど、逆行性トレーサ標識法の結果と一致していた。現在、これらの連続薄切標本を順次データベースに取り込み、各種層マーカーにおける発現パターンの所見を各切片毎に入力中である。また、今回作成したデータベースファイルは１台のサーバパソコンでホストすることにより、ラボ内 LAN に接続された他のクライアントマシン、さらにはファイルメーカーのフリーの閲覧ソフト (FileMaker Go) をインストールした iPhone などのスマートフォンや iPad などのタブレット端末で同時にブラウズしたり、所見を編集する等、情報を共有することができた。今後は、その他の層特異マーカーを用いた標本作成に加え、クリューバー・バレラ染色等の一般染色標本、BrdU (誕生日標識) 注入時の増殖分裂期ニューロンを標識する免疫染色標本等も取り込むことにより、データベースのさらなる充実を図りたいと考えている。以上により、今回作成したデータベースは、神経科学分野の研究に携わる研究者や学生が広く利用できるツールとして有用であると思われる。

S12

生物学研究者のための
機械工作逆引き動画テキストの作製

生理学研究所 技術課　佐治 俊幸

生理学研究所 機器研究試作室にて、生物科学・生理科学用実験機器の試作を行うと共に、研究者及び学生に対して技術指導を行っている。機器研究試作室では、平成１２年度より機械工作基礎講座を開講し、毎年２～３０名の機械工作初心者に対して安全講習及び機械工作の技術指導を行ってきた。その際の指導教材としてテキストになる書籍を検索するも、そのほとんどが、加工機械の使用方法や加工の理論を中心としたテキストであった。機械加工を体系的に学ぶのには都合の良いこれらのテキストではあるが、実験機器を自分で製作したい初心者は、どの加工機械を使えば希望する加工が可能であるかを知ることはできず、最適な加工を行うためには、使用可能な全ての加工機械のテキストに目を通す必要に迫られる。機械工作の初心者に必要なのは、希望する加工に使用可能な加工機械は何であるかを知り、その上で、その加工機械の使用方法を解説することであると考える。これらを実現するために、逆引きテキスト*を作成する。このテキストには、動画を付加するため、より容易に工作方法が理解できると考える。この様な、工作方法が検索できるテキストを製作し、工作実施者が自分の希望する工作方法を迅速、容易に探せると共に、安全に工作を行えるようにする。

口演報告では、テキスト製作に至った経緯と、テキスト製作に関する工夫および苦労を紹介すると共に、ポスター発表会場では、製作途中ではあるが、製作したテキストを展示するので、ご批判、ご意見、ご要望をお願いいたします。

*逆引きテキスト

事柄から使用すべき工作機器の操作方法を探すリファレンスであり、通常「○○を行うためには、△△を使用し、使用方法はＸＸである。」という形式を取るものである。

たとえば、材料に穴をあけるだけなら、ボール盤や電動ドリルが使用されるが、材料が丸い棒であり端面の中央に穴をあけるのであれば、旋盤によるドリル加工が選ばれる。穴の直径精度が求められるのであれば、ドリル加工ではなく、内繰りバイトを選択する必要がある。穴の直径が５０ｍｍであれば、ボール盤加工でドリル刃をホールソーにしたり、フライス盤や旋盤を用いた加工を行うこととなる。この様な検索が可能なテキストを逆引きテキストと呼ぶ。

口演発表
（一般口演）

【22日　9：0〜】

A1

レーザーマイクロダイセクションを用いた エンドウヒゲナガアブラムシの卵巣小管由来の組織回収

基礎生物学研究所 技術課　牧野 由美子

【目的】レーザーマイクロダイセクションシステムは、顕微鏡視野下で組織切片から目的の領域のみをレーザーにより切り出し、回収する装置である。回収した組織から抽出された RNA などは、遺伝子発現解析のため DNA マイクロアレイや次世代 DNA シーケンサなどの試料として用いられる。今回用いた装置には、IR レーザーと試料を切り取る UV レーザーが搭載されている。切片を貼付けたメンブレンフレームに、熱可塑性樹脂がコーティングされた回収キャップを置いた後、画面上で切り取る領域を描き、IR レーザーで熱可塑性樹脂をメンブレンに吸着させ、UV レーザーで切断して組織を回収する。

今回、エンドウヒゲナガアブラムシの卵巣小管を構成する germarium（胚腺）を回収するため、通常は組織切片を貼付けるメンブレンフレームに、解剖した卵巣小管をのせた。

組織切片からの回収とは違い、生の germarium を回収するために、2 種類のレーザーの照射条件を検討した。

【方法】組織切片用のレーザー照射条件を用いて germarium を回収したところ、UV レーザーで切り取るための描線と実際に切断された線とでずれが生じた。また、IR レーザー照射によりメンブレンに張り付いた面積も大きかった。これらは、レーザーの出力が強いためと思われる。そこで、目的である生の germarium を回収するために、適切な UV レーザー照射及び IR レーザー照射の条件検討を行った。

(1) UV レーザー

1)メンブレンへの照射による形が小さな円になるようにフォーカスを調整した。

2)描線と実際に切断された線とのずれが小さく､かつ確実に切断する出力値を検討した。

(2) IR レーザー

1)照射により回収キャップにコーティングされた熱可塑性樹脂が溶けて伸長し、メンブレンに張り付き、吸着力により組織を回収する。確実に接着し、かつ接着面積が小さくなる出力値を段階的に検討した。

【結果と考察】UV レーザーはフォーカスを合わせた後、もとの 15％の出力にて僅かなずれで切断することができた。IR レーザーでは常に接着が確認できた最小値としての出力値は、より小さな値となった。また、レーザーの出力を小さくすることで組織へのダメージを抑えられるようになった。

得られた条件を用いて多くの germarium を回収できたが、一部回収できないことがあった。それらは、レーザーの照射出力はそのままで、照射方法を工夫することにより、回収することができた。

A2

硬組織に対する迅速な脱灰法の検討
―染色性の保持を目指して―

富山大学 医薬系技術部（病理診断学）　八田 秀樹

【目的】病理組織標本作製において、骨や歯などの硬組織や組織内の病的石灰沈着巣にはカルシウム等の無機塩が沈着しており、そのままでは通常の薄切標本（3～5μm）を作製することは不可能である。そこで、これらの硬組織を薄切可能にするために『脱灰』の工程が施される。脱灰液には、無機酸、有機酸を含めた酸性脱灰液とキレート剤を用いた中性脱灰液の他に、数種の溶液を混合した脱灰液など多数の処方が報告されている。しかしながら、**①脱灰が迅速である②操作が簡単で、且つ安価である③組織への障害が少なく染色性が安定している**、といった条件を全て満足させる脱灰液はなく、迅速性を追求すれば染色性が劣化し、染色性を求めれば脱灰に時間がかかる、といったジレンマが生じている。また、顎骨など太くて硬い骨組織では脱灰に時間を要し、追加治療の選択が遅れるといった問題も生じている。そこで今回は、①を満足させるために超音波（US）を併用し、②を満足させるために市販の試薬と市販のUS装置を用い、③を満足させるためにギ酸を使用して、迅速性と染色性の保持を兼ね備え、簡便で安価な脱灰法について検討した。

【方法】USの有するキャビテーションは、機械的作用や衝撃波発生やフリーラジカル生成を伴う複雑な現象である。病理診断で扱う生体組織は繊細であり、機械的作用で染色性が変化する危険性があることから、細胞破壊を起こす機械的作用を抑制し、且つUSの特徴である撹拌・浸透効果を最大に発揮させる条件の設定が、USを病理組織標本作製に応用するカギとなる。また、最近ではUSによるフリーラジカルが細胞障害を誘発することが報告されており、このフリーラジカルを抑制する方法として、ラジカルスカベンジャー（消去剤）が効果的であることも報告されている。この取り組みは、安価な市販のUS洗浄機を用い、更に脱灰液にはラジカルスカベンジャーを添加することで、組織障害を最小限に抑え、染色性を保持しつつ、脱灰処理の時間短縮を試みるものである。

実験で使用するラジカルスカベンジャー（D-Mannitol）の濃度を設定するために、未染標本の破損試験（剥がれ具合の比較検討）行った。D-Mannitolの濃度を0、5、10、20、30、40、50％と変化させて、60 分のUS照射の後H・E染色を施行して評価した結果、30％のD-Mannitolが最も標本の破損が少なかった。また、D-Mannitolは30％を超えると白濁して粉末が溶けない状態（飽和）となり、30％のD-Mannitolを使用濃度とした。

成牛肋骨（研究用に購入）を1cm幅でスライスし、30％のD-Mannitolを添加したギ酸で脱灰実験を施行した。US照射時間は、30分・60分・90分・120分と変化させて、浸漬時間毎の脱灰状態を評価した。対照として、30％のD-Mannitolを添加しないギ酸の他に室温放置による脱灰についても評価した。脱灰の進行具合はH・E染色におけるヘマトキシリン好染領域（未脱灰領域）を観察することの他に、脱灰液中に含まれるカルシウムイオンを測定することで確認した（マイクロプリートリーダFilterMaxF5による吸光度測定）。

【結果と考察】H・E染色による形態（ヘマトキシリン好染領域）の比較では、室温放置の120分でも未脱灰領域が散見されたが、US照射においてはD-Mannitolの添加の有無にかかわらず殆ど未脱灰領域は消失していた。また、骨や骨髄を構成する種々の細胞の形態はいずれもよく保持されていた。以上より、H・E染色での評価に限定すれば、操作が簡単で安価な市販のUS装置でも、脱灰の迅速化に十分応用可能であることが示された。また、脱灰液中に含まれるカルシウムイオンの定量試験においても、この結果を支持していた。

講演では、免疫染色法による抗原性の保持確認試験や、実際の人体組織における臨床試験等についての結果も併せて報告する。

A3

反射電子像を用いた画像処理の試み

岩手医科大学 医歯薬総合研究所 バイオイメージングセンター　小笠原 勝利

【目的】

電界放出形走査電子顕微鏡（SU-8000（日立））で撮影した画像（反射電子像）から、画像処理ソフトウェアを用いて、厚さ方向の情報と広範囲な画像を得る。

【方法】

エポキシ樹脂包埋法によるラット視神経組織の連続超薄切片を作製し、連続画像を取得した（52枚）。その後、ImageJ（NIH）のソフトを用いて、撮影した画像の位置合わせと色付け、3D化の処理を行った。位置合わせは、自動機能（stackReg 平行移動と回転を補正）と手動で行った。色付けは、3D構築時に細胞周囲の関係が、より分かり易くなるようにそれぞれ違う色を塗り、3D Viewer と TrackEM2 の機能を用いて、ボリュームとサーフェスで三次元表現した。

次に、広範囲な情報を得るために、マウス小脳の表層から顆粒層まで撮影を行った（5×10 枚）。その後、撮影した画像のつなぎ合わせを、自動機能（e-Tiling（MITANI CORPORATION））と手動（Photoshop）で行った。

【結果】

厚さ方向の情報については、連続画像の位置合わせと3D化をすることで、立体的な情報を得ることができた。また、色付けをした細胞をそれぞれ3D化することで、細胞の形態や周囲の細胞との関係が、より分かり易く表現することができた。

広範囲に撮影した画像のつなぎ合わせについては、自動機能では画像の連結部分にずれが見られたが、手動では画像の連結部分に大きなずれは見られず、ほぼ正確に画像のつなぎ合わせを行うことができた（画像サイズ 10,460×14,073 ピクセル）。

【考察】

画像のつなぎ合わせについては、自動でより正確にできるように、処理方法の見直しや他のソフトを用いるなど検討していきたい。

また、ImageJはフリーソフトであるが、便利で有効な機能が多くあると考えている。処理方法や機能については、未だにわからないことが多くあるので、引き続き学びながら、超微形態解析に活用したい。

【参考文献・資料】

・ImageJホームページ　http://imagej.nih.gov/ij/

・Micheva, KD and Smith SJ: Array Tomography: A New Tool for Imaging the Molecular Architecture and Ultrastructure of Neural Circuits. Neuron 55, 25–36, July 5, 2007

A4

バーチャルスライド仕様ティシュアレイの作製

浜松医科大学 腫瘍病理学講座　加茂 隆春

【目的】ユビキタスなバーチャルスライド（以下，VS）：NanoZoomer Digital Pathology（浜松フォトニクス）は、研究分野、教材用、診断支援など広範囲に利用されている。そのもとになる標本は、クオリティコントロールの重要性から、ヘマトキシリン・エオジン染色(以下，HE)や免疫染色をアレイ標本でVSにすることがある。システムは、プレパラートのスキャン、デジタル画像化、画像の検索や観察、データの保存などで機能する。これらは､VSのロード時間やメデイアの容量が標本数ごとに増える問題がある｡本研究目的は、VSを併せた免疫染色クオリティコントロールの均一化をはかるものである。今回、肺腫瘍を陽性コントロール相当の症例から、アレイパラフィンブロックを作り、同一スライド上で 異なった症例を評価できるHEと多種免疫染色標本を作製したので報告する。

【方法】

(1)　ヒト肺組織の、正常と腫瘍(腺癌,多形性癌,扁平上皮癌,小細胞癌,腺扁平上皮癌,他臓器からの浸潤癌)組織芯アレイブロックを作製し 6 枚薄切後、1 枚の New SilaneⅢスライドグラスに貼付け乾燥する。

①　同一スライド上で各免疫染色をして DAB 発色までする。
(CK7, CK20, TTF-1/napsinA, CK14/p63, CD56, ChromograninA)

②　①のスライドに 1 枚切片を貼付け乾燥後、すべての切片にヘマトキシリン染色をする。

③　②で貼付けた 1 枚にエオジン染色をする。

④　エオジンをかるく洗い流し、スライドグラスを 脱水、透徹、封入する。

(2)　MiNi PAP PEN を用いて各染色を区切るが、切片を並べて貼付けているので組織間が狭く苦労する。

(3)　通常、HE と各免疫染色は手順が異なり VS も別々になる。これを改良して 1 枚のプレパラートにまとめる。

【結果】

・　クオリティコントロールとして、HE と免疫染色を併せた複合ティシュアレイと VS の利用は、その再現性（同じ切片を用いる）や、客観性（複数の鏡検者で相互に評価が容易である）が重要で、実務上も有益な情報であった。

・　VS 作製時間や保存用メデイアの容量が最小限になった。

【考察】このクオリティコントロールは病理学的特徴を記載するだけでなく、クラウド上では各染色の配列パターンを VS 画像で他施設から同一観察や比較できるようになり､研究分野や解析と医学教育にも更なる貢献をもたらすものと思われる。

A5

最新分類体系に基づく
植物系統進化学 web 版教科書開発のための研究

基礎生物学研究所 技術課　壁谷 幸子

【目的】

私は生物進化部門に所属し、分子系統学の研究を支援している。近年、植物の分子系統学の研究が飛躍的に進展し植物の分類が大きく変わった。これまでに、研究者向けには教科書やホームページで最新の分類体系が公開されている。しかし、これらの内容は全て英語で記載されており、専門用語による形態の説明は専門家以外には理解できない。

そこで、日本語で解説された専門家以外の人でも理解できる教科書を作成し、web での公開を目指している。今回は、その進捗状況について報告する。

【材料及び方法】

材料；被子植物
研究室教授の最新系統分類学講義資料（PowerPoint file）
Web 制作ソフト（Adobe Dreamweaver CS6 for Windows）

方法；①Web サイト構築：サイトのデザイン、内容の構成、テンプレートの作成。
②Web サイト開設：http://www.nibb.ac.jp/evodevo/tree/00_index
③内容の編集：系統樹や派生形質*を示した写真、日本語の解説をレイアウト。
④内容の更新：教授からの資料を随時更新、レイアウト変更や内容の修正。

*系統推定に用いられる情報を“形質”と呼ぶ。分岐学では、共通祖先に見られる形質を祖先形質、新たに進化した形質を派生形質として区別し、近年、系統推定には派生形質を用いる。

【結果】

Web サイトの構成を 6 項目に分類し、はじめに、内容が固定している「ホーム」、「背景」、「系統樹（とは)」、「陸上植物」、「問い合わせ先」を編集した。

次に、「被子植物」について、系統樹の階層である目→科→属の順に、系統樹と派生形質を関連づけながら、下の階層へ順次進む構造を作成した。解説は、教授の著書や講義資料から抜粋し使用した。また、用いる写真は全て自前とした。

編集の過程で 1)立体的な写真画像の取得や 2)系統樹内の植物分類名の検索方法について検討を行ったので、併せて報告する。

【今後の課題】

今後は、微細な派生形質を解説するために、組織切片の作製と顕微鏡による観察、写真撮影などを行うことで、内容を充実させていきたい。

A6

ゲットウの抽出液が葉菜類に及ぼすアレロパシー効果

鹿児島大学 教育学部　池田 充，浅野 陽樹，龍野 巳代，中村 徹

【目的】　鹿児島大学ローカルシンフォニー事業で、与論島で活動している栽培担当の教師が、沖縄や与論に自生しているゲットウに着目し、そのアレロパシー効果を地域活性化の材料に利用できないか、検討し島民に提案した。

アレロパシーとは、一般的には「植物が放出する化学物質が他の生物に阻害的あるいは促進的になんらかの作用を及ぼす現象」を意味する。

ゲットウは古くからそれらの地方で多岐に亘り利用されてきたが、全国的にはあまり知られてはいない。ゲットウの新しい価値を見出すために、今回技術専門職員がゲットウのアレロパシー効果の有無を確かめるとともに作物への応用を検討した。

【方法】

(1)ゲットウの葉を乾燥させ粉砕した粉末1に対し、水100、水1000、温湯(50度)100で抽出した液を散布する処理区と水を散布する無処理区も設けた。

(2)育苗と露地栽培の二つの栽培実験を行った。育苗では、50 穴の育苗専用セルトレーと専用培土を使用し、露地は慣行法に従った。双方ともホウレンソウ、ミズナ、コマツナの作物についてそれぞれ4反復で実験した。

(3)播種後、抽出液を1週間に2回、それぞれ10ml施した。最大葉長を1週間ごとに調査し、育苗については定植時期に、露地については収穫適期に生重を調査した。

【結果】

(1)育苗

葉身長は、コマツナではすべての処理区で促進効果が認められ、特に温湯100倍区で最も高い値を示したものの、ミズナではすべての処理区で抑制的に働き、ホウレンソウでは特に大きな差は認められなかった。生重量についてはホウレンソウを除いて同様の傾向が認められ、ホウレンソウでは温湯100倍区と水1000倍区で促進効果が認められた。

(2)露地栽培、セルトレー育苗

葉身長は水菜が各抽出液区で最大であった、しかし対照区だけが低かった。ホウレンソウは温湯区だけ低い値が認められた、生重対比率ではホウレンソウ、コマツナが対照区に比べ各区で減少し最大で50%も低かった。

【考察】　セルポット育苗では、コマツナ、ホウレンソウの温湯の抽出力が高いと考えると、抽出の効果は有効成分濃度に影響される事が示唆された、一方で、ミズナにおいては抑制的に働いたことから、ゲットウの抽出液の生育促進は、肥料効果的というよりも何らかのアレロパシー成分による効果であることが推察された。また、同効果は作物選択性をもつことが明らかになった。

以上のことから、ゲットウの抽出液はコマツナには生長促進の効果、ホウレンソウには温湯が生長促進の効果、ミズナには生長抑制の効果が明らかとなった。

今後はそれらの効果の更なる検証と他作物へ試験を行い、ゲットウの利用方法を確立するとともに新たな効果を探りたい。

A7

系統解剖実習用の献体の防腐処置に難渋した例とその対処法

浜松医科大学 解剖学講座(神経機能学分野)
佐々木 健，伊藤 武司，佐藤 康二

【目的】医学部歯学部の解剖学教育においては、実際の人体(御遺体)を用いた系統解剖実習が必須であり、その御遺体は殆どが篤志献体によって充てられている。実際、浜松医科大学ではその解剖実習に用いる御遺体は、現在 100%が篤志献体によるものであり(他大学では一部例外あり)、本学にはその献体組織として白菊会と新天会の二団体が存在している。本学では、搬入された献体は直ちに右または左の大腿動脈からのホルマリン注入により防腐処置(固定)が行われるが、糖尿病等により石灰化の激しい大腿動脈ではホルマリン注入は容易ではなく、時には殆どホルマリンが注入できない場合もある。その場合は反対側の大腿動脈や橈骨動脈等からホルマリン液を注入する。しかしながらこれらの動脈からの注入によってもホルマリン固定が不十分な場合もあり、このような献体は固定不良となり学生実習において十分な剖出や観察が出来ず、学生教育への影響が懸念される。

今回、我々はこの献体の保存作業において、ホルマリン注入が極めて困難だった 3 例に対し(いずれも糖尿病や動脈硬化による血管の石灰化が原因と思われる)、大腿静脈からのホルマリン注入を試みたので、その注入・固定の結果とその後の解剖実習における影響について報告する。

【方法】2008 年 1 月以降、浜松医科大学に搬入された献体 218 体のうち、大腿動脈からのホルマリン注入が極めて困難だった 3 体に対し､大腿静脈からのホルマリン注入を試みた。なお、注入日とその後の解剖実習については以下の通りである。

(1)2008 年、4 月 9 日　防腐処置→2010 年度(10～12 月)に実習
(2)2010 年、4 月 26 日　防腐処置→2012 年度(10～12 月)に実習
(3)2011 年、3 月 1 日　防腐処置→2013 年度に実習予定

【結果】全ての献体において、大腿静脈からのホルマリン注入はスムーズに行うことができ､注入ホルマリン液 7L もほぼ全てが体内に入った｡また､献体の固定状況も良好であり、その後の保存(2～3 年間)も特に問題は無かった。さらに、実際の実習においては、(1)(2)の両献体は他の献体(大腿動脈からのホルマリン注入)と同様の状態であり、実習も滞りなく行われ、実習での担当学生の感想も｢問題無し｣ということで良好であった。

【考察】今回の経験から、大腿静脈は献体のホルマリン注入部位として有効であると考えられた。よって従来からの大腿動脈からの注入法が困難な場合は、大腿静脈に注入部位を変更する等、臨機応変に対応することが重要であると思われる。

A8

人為的突然変異導入マウス生殖細胞における突然変異頻度の経時変化

基礎生物学研究所 技術課　高瀬 洋子

【目的】ほ乳類の精子形成過程では、子孫に伝達される遺伝情報を正確に保つため、何らかのメカニズムが存在することが強く示唆されている。しかし、その実体は明らかではない。そこで、変異原を用いて人為的に生殖細胞に変異を導入し、変異を持った細胞を選択的に除去するメカニズムが存在するか否かの検証を試みた。

【方法】Big Blue®システム（Agilent 社）を適用するために作出した Big Blue®遺伝子改変マウス（８週齢♂）に、DNA アルキル化剤であるブスルファンを変異原として腹腔投与した。①ブスルファンはマウス精巣では生殖細胞に特異的に、かつ用量依存的に作用する。そこで、投与するブスルファンの至適濃度を検討した。②ブスルファン投与後３、６、９週後に精巣を採取した。③片側精巣からパラフィン切片を作製し、組織学的検討を行った。④反対側精巣からゲノム DNA を調製した。ゲノム DNA の調製は透析法を用いた。⑤調製したゲノム DNA を用いて突然変異頻度を算出した。

【結果】組織学的検討により、ブスルファンの投与量を体重１kg あたり 2.5 mg 及び 5.0 mg とした。突然変異頻度をブスルファン投与３週後の精巣で比較したところ、コントロールに比べてブスルファン 2.5, 5.0 mg/kg 投与群では突然変異頻度の上昇が示唆された。

Big Blue®システムは、ゲノム DNA に組み込まれたλファージベクタ（大腸菌 lac I 遺伝子が挿入されている）を突然変異の標的とし、それを in vitro パッケージングにより回収し変異（青色）プラークを形成させることで突然変異頻度を算出するシステムである。In vitro パッケージングに用いるゲノム DNA は、断片化が少なく、かつ完全に水和している状態であることが望ましいため、その調製法を検討したところ、透析により良好な結果が得られた。メンブレンフィルタを挟んで透析用バッファ水面に浮かべることができるテフロン製のフロートを設計し、精製前のゲノム DNA をメンブレン上に置いて一晩透析すると、簡便に高分子 DNA を調製でき、収量を向上させることに成功した。フロートはテフロン製であるため乾熱滅菌可能であり、繰り返し使用可能であった。フロートは機器研究試作室（生理学研究所）に依頼して作製して頂いた。

【考察】ブスルファン 2.5, 5.0 mg/kg の投与群において、突然変異頻度を検討できることが示唆された。現在、投与後６週及び９週後の精巣等で突然変異頻度がどのように推移するか検討中である。

【22日　：　～】

A9

jQuery プラグインを用いた Web 画像拡大・縮小・ガイド表示機能の作成

基礎生物学研究所 技術課　西出 浩世

【目的】jQuery とは JavaScript と HTML の相互作用を強化する軽量な JavaScript ライブラリであり、フリーかつオープンソースである。ブラウザに依存しない DOM オブジェクトの操作・変更、CSS 操作、エフェクト・アニメーションなどの機能を簡単に実装でき、高度な Web ページを作成することができる。また機能を簡単に拡張することも可能で、多数のプラグインが公開されている。この jQuery とその公開プラグインを用いて Web 上の画像を拡大・縮小表示する機能ならびに表示場所のガイド機能を実装したので報告する。

【方法】Web 画像の拡大・縮小表示を可能にする jQuery プラグインは多数公開されているが、いろいろ試した結果１つの画像ファイルのみで拡大・縮小が可能で、スケールに対応したクリッカブルマップの書き換えも可能な「jQuery zoomable plugin」を採用した。実装にあたってはかなり改造を施した。主なものでは、1)スケール段階数の調整、2)拡大・縮小起点を画像の中央から上端左端に変更、3)画像のドラッグ範囲を限定して画像が見切れるのを防止 等。さらに、画像全体のどの辺りを表示しているかを判り易くするため、位置ガイド表示機能を当プラグインに追加した。URL から引数を受け取るために全体のページ作成には PHP を用いた

【結果】想定していたものとほとんど同じ機能を持たせて完成させることができた。ガイド機能では画像本体をドラッグしても「現在見えている部分の窓」が移動し、部分窓の方をドラッグしても画像全体の表示を移動させることが可能となった。詳細は発表時のデモで紹介する。

【考察】jQuery を利用した JavaScript の書き方は独特なものが多く最初は苦労したが、慣れると様々な機能が最小限の記述で実現できることがわかり、今後の Web 作成にも役立ちそうである。これらを書いていると全てを Web ブラウザ（Web クライアント）にさせるような記述をしてしまいがちだが、CGI や PHP と併せるなどして画像のサイズ取得のような Web サーバの方が高速な作業はそちらに任せる方がよい。

【参考資料】

jQuery zoomable plugin：http://www.doogal.co.uk/zoomable.php
jQuery 日本語リファレンス：http://semooh.jp/jquery/

A10

携帯電話を用いた緊急時連絡体制の検討

東北大学加齢医学研究所 情報ネットワーク室　小森 和樹

【目的】

以前に、加齢医学研究所における災害対策体制を強化するため、携帯電話の Web ブラウザ機能を用いて障害に強い参集・情報共有システムを開発した。（生理学・生物学技研報 2009, P160）しかしながら、2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災では、すぐに発生した停電によりシステムが動作しているサーバが停止してしまったため、緊急時連絡システムを用いて情報共有を行うことができなかった。

この問題を解決するため、携帯メール一斉配信サービスである KinQ.JP(NHK メディアテクノロジー)を利用した緊急時連絡体制について検討したので、報告する。

【方法】

遠隔地に設置したサーバ上で動作する携帯メール一斉配信サービス(KinQ.JP)を利用し、緊急時には登録者の携帯電話メールアドレスに一斉送信を行う体制を構築した。メールを受信した登録者は、必要に応じて携帯電話の Web ブラウザ機能を利用して必要な情報を入力・閲覧する。

【結果】

遠隔地に設置したサーバ上で動作するシステムであるため、地震等により加齢医学研究所にて停電やネットワークトラブルが発生している場合でも、問題無く利用できるようになった。

【考察】

2011 年 3 月 11 日の東日本大震災の際､地震直後は携帯電話によるメール機能および Web ブラウザ機能を利用することができた。つまり、緊急時連絡システムを遠隔地に設置したサーバ上で動作させていれば、東日本大震災においても緊急時連絡システムを利用して情報収集および連絡が可能だったことになる。

また、携帯電話基地局の状況について調査したところ、携帯電話事業者により対応状況に差があるが、3 時間程度はバッテリーにて基地局が稼動するよう対策がとられているようであった。(また、東日本大震災を受け、このバッテリーによる基地局の稼動時間の延長を検討しているとのことである)

以上のことから、遠隔地に設置したサーバ上で稼動する携帯電話による緊急時連絡システムは、緊急時の情報収集・連絡手段と利用する事が可能であり、非常時に通話規制がかかるリスクがある電話等と比較して、たいへん有用であると考える。

A11

生物学実験実習における実習サポートと工夫面

信州大学 繊維学部 技術部　武田 昌昭

【目的】信州大学繊維学部は、4年前に7学科から3系9課程と学部改組が行われ、国立大学が法人後に組織運営され始めた技術部も、それに対応するように3グループ編成で業務を行っていた。そのグループの一つに応用生物科学グループがあり、主に2つの課程（生物機能科学課程、生物資源・環境科学課程）の研究教育支援をおこなっている。今回は、系・課程の学生実験実習に対するサポート内容と、業務を円滑に進めるにあたっての工夫面、技術職員が技術向上に行うグループ内研修などを報告する。なお平成24年4月に学部改組が行われ4系9課程となり、技術部内も組織再編を行い現在応用生物科学グループは生命科学グループと名称を変更した。その経緯等も紹介する。

【方法】

（１）教員と技術職員で、実験実習の内容とスケジュール等の調整。

（２）生物実験室の割り振り、機材整備など。

（３）グループ内で実験実習に対する研修。

【結果】これまで特定の技術職員が実験時習を行っていたが、教員と内容やスケジュールの調整、グループ全員が実験内容等を把握するために行った研修等により、人員の割り当てが円滑に行われ、それぞれ技術職員の作業量なども改善された。

【考察】信州大学はタコ足大学であり、入学して1年は松本で授業を受ける。来年度から改組後の2年生が繊維学部に移る。それに対応すべくカリキュラムが再編され、また実験実習の内容も変更する。そのため特に25年度は旧カリキュラムの3年生と新カリキュラムの2年生が存在する。それらの教育・研究をサポートするため、さらに教員との密接な協力体制と、技術職員の知識・技術面での力量アップが必要となる。

【22日　:　～】

A12

技術ジェネラリストとしての技術支援

九州工業大学 情報工学部　楠本 朋一郎

【目的】技術があると一言で言っても色々な形態があり、活躍の場も千差万別である。筆者の技術のバックボーンは、微生物培養、タンパク質化学などの生物化学であるが、企業在籍時代には、無機合成化学、X線回折分析、電子顕微鏡（SEM)、HPLCといった各種機器分析技術を幅広く身につけた。1つの機械や分析に対してのスペシャリストではないものの、幅広く知識、経験を有することで、研究支援への有効性を論じていきたい。

【保有技術と適用事例】

(1) 保有技術：

・情報技術（Perl,Cを用いたプログラミング、HTML）

・分析化学技術（TOF-MS、HPLC、GC、原子吸光分析、X線回折、蛍光X線分析、表面積測定、熱分析計、電子顕微鏡、分光光度計などを用いた一般的化学分析）

・有機合成、無機合成技術

・タンパク質化学実験操作（微生物培養、タンパク質精製、2次元電気泳動、PMF法）

・安全衛生技術（安衛法、放射線障害防止法など法令の解釈,申請書の作成、作業環境測定）

(2) 適用事例

・電子レンジを用いたマイクロ波培養装置の設計：従来はコールドルームに籠ってマニュアルで電源のオン/オフをやっていたものを、市販の制御装置で自動制御できるよう設計。

・研究室の実験指導：学生時代、企業時代の経験に基づいて、学生の研究の進め方、実技に対して指導を行っている。研究テーマは2テーマを担当。酵母抽出物からの有効成分の精製では、適用分離剤の選別、精製戦略の指示、HPLC・凍結乾燥器・電子顕微鏡を用いた精製・評価。アミノ酸生産菌の呼吸鎖酵素超複合体の精製では、界面活性剤の変更による安定な超複合体の精製成功。

【考察】技術職員は特定の装置のメンテナンスや測定に従事しているケースが多いと思うが、様々な技術を習得し経験を積むことで、更に有効な働きが出来ると考えている。また、先生達と親密な関係を築くことで、所属している研究室が保有していない装置（HPLC、電子顕微鏡、凍結乾燥器）を貸して貰うことができ、選択・適用可能な技術の幅が大きく広がるという経験を得た。企業で得た技術と見識を大学に戻って研究テーマを再度見ることで、学生の時には気付かなかった様々なことが見えてくるし、どういった技術、手法で解を導けばよいのかが俯瞰できる部分が大きな強みである。

ポスター発表

P1

高麗紅人参バチラスの水系およびアルコール系抽出成分によるウシ副腎髄質細胞内遊離カルシウムへの影響

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 総合研究支援センター
庄野 正行

【目的】高麗紅人参バチラス(RGB)の水系およびアルコール系抽出成分がウシ副腎髄質細胞内遊離カルシウムへの影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】単離ウシ副腎髄質細胞はプラスチックシャーレに濃度 $1x10^5$ /ml の濃度に培養し4日目の細胞を使用した。細胞内遊離カルシウム濃度測定は蛍光指示薬 Fluo4-AM(5μM)とカルシウム流入刺激はアセチルコリンを用いて相対蛍光強度による解析で RGB の水系とアルコール系成分に対する影響を検討した。

【結果】ウシ副腎髄質細胞にアセチルコリンを添加すると速やかに細胞内遊離カルシウムが上昇、5 分までに徐々に下降した。RGB の水系抽出物では細胞内遊離カルシウム濃度変化は少、アルコール抽出物では上昇し、アセチルコリンを混和した RGB の水系抽出物とアルコール抽出物は同等の抑制効果を認めたが、水系抽出物はアルコール抽出物よりも抑制が軽度であった。

P2

脳脊髄液中に含まれるN-結合型糖鎖解析

生理学研究所 技術課　小池 崇子

【目的】脳脊髄液は脳と脊髄を循環しているため、中枢神経系の代謝機構の異常を多く反映する。各種神経性疾患の探索源として注目されており、早期診断法を確立するための研究が進められている。我々は脳脊髄液中に含まれる糖タンパク質に着目し、バイオマーカーとして診断に利用する技術の確立を目指している。

【方法】Ｎ-結合型糖鎖の構造解析方法として３次元 HPLC システムを利用し、必要試料の微量化に成功した。この手法を用いてタップテストにより得られた正常圧水頭症患者の脳脊髄液中に含まれるＮ-結合型糖鎖の構造解析を行った。

【結果】脳脊髄液 1ml から糖タンパク質糖鎖を精製し､糖鎖構造を決定することができた。

【考察】脳脊髄液が得られる症例には iNPH(特発性正常圧水頭症)や AD(アルツハイマー病)などの疾患が混在していると予測され、合併する神経変性疾患の病態解明に結びつく可能性が期待される。現在はタップテストにより脳脊髄液を採取した患者の確定診断の結果とＮ結合型糖鎖組成がどのように連鎖しているのか検討している。

【参考文献・資料】Yoshimura et al., Anal Biochem., 15;423(2):253-60 2012

P3

細胞内色素注入法を用いた神経細胞の形態解析

基礎生物学研究所 技術課　大澤 園子

【目的】神経細胞の樹状突起形態を調べる方法の一つとして、「細胞内色素注入法」を行っている。今年度始めに前任者からこの手法を引き継ぎ、技術の習得に努めている。マウスの灌流固定から神経細胞への色素注入、形態解析までの一通りの実験手順を紹介するとともに、実験の中で生じた問題点や失敗例を含めて現状を報告する。

【方法】「細胞内色素注入法」は、パラホルムアルデヒドで通常より“弱く”固定した脳をスライスし、顕微鏡下で標的細胞に蛍光色素を注入するという手法である。この方法を用いると、神経細胞の樹状突起をすみずみまで染色することができる。また細胞の場所や種類を選択して染色することが可能であるため、数や密度を調節できるという特徴がある。

共焦点レーザー顕微鏡で色素注入した神経細胞のＺスタック画像を取得した。画像解析ソフトにより三次元構築した後、形態解析を行った。

【結果】灌流固定がこの実験のポイントであり、その固定が適切にできた時には、色素注入も順調に進むことが分かった。最終的には、遺伝子改変マウスと野生型マウスの樹状突起の形態を比較したい。

P4

精巣におけるプロサポシン（PS）の免疫組織化学と In situ hybridization 実験にパラフィン切片を用いた場合の問題点

愛媛大学 医学部 解剖学・発生学教室　山宮 公子

【目的】プロサポシンはサポシン A, B, C および D を含む 524～527 個のアミノ酸残基からなる前駆体タンパク質である。本研究では、精巣におけるプロサポシンの精子形成における役割を明らかにする目的で免疫組織化学染色と In situ hybridization をおこなった。

【方法】当教室では通常パラフィン切片による免疫組織化学で蛍光染色を行いプロサポシンの局在を観察し、In situ hybridization では凍結切片を用いて mRNA の分布を観察している。今回はパラフィン切片で両観察法を試し、比較検討した。

【結果】蛍光染色では精巣の基底部とセルトリ細胞に明瞭なプロサポシンの分布見られた。In situ hybridization では基底部に強く反応が見られた。凍結切片とパラフィン切片で同様な反応は見られるが、パラフィンでは脱パラフィンがうまくできない為、染め斑とパラフィンの残像がバックグラウンドとして残ってしまい観察しにくかった。

【考察】今後はスライドの種類の変更、脱パラフィンの方法、ブロッキング等改良を加え、パラフィン切片でも信頼性の高い In situ hybridization ができればと期待している。

P5

海外から譲渡されたマウス凍結精子の体外受精の報告

福井大学ライフサイエンス支援センター生物資源部門
前田 秀之，向川 市郎，糸崎 悦子

遺伝子組換えマウスを使用しての研究が盛んに行われることにより、マウスの授受が研究機関間で頻繁に行われるようになった。それに伴い、授受方法もマウス個体から発生工学技術が普及して凍結胚に、そして精子凍結保存液等の改良により凍結精子を用いて行われるようになってきた。

今回､我々の大学に海外からの３つの研究機関より凍結精子によるマウスの授受があり、研究者より精子融解、体外受精後のマウス個体化の依頼があった。３つの研究機関でのマウス精子の凍結・融解方法はそれぞれ違っており、また現在日本で広く行われている CARD 法（熊本大・動物資源開発研究部門）とも違っている。我々が経験したことが、他大学・研究機関で今後海外から凍結精子でのマウスの授受がある場合の参考になればと考え、取り組み方法・結果・問題点等を報告する。

P6

メダカを用いた神経発生・機能解析

名古屋大学 全学技術センター 生物・生体技術系　井上 慎子

【目的】メダカの神経組織は、哺乳類等に比べて単純で観察が容易であることから、脊椎動物の神経発生・機能を理解するための良いモデルとして、近年多くの研究者に利用されつつある。私はメダカの行動変異体の遺伝学的・組織学的解析を行うと共に神経回路を可視化するトランスジェニックフィッシュの開発を試みた。
【方法】（１）メダカ行動変異体 ro の解析：ro 変異体は 25 度以上で激しい運動失調（回転する）症状を示す。ro 変異体と野生型メダカ HNI/Kaga を交配し、F2 世代で運動失調症状を示す個体を用いてポジショナルクローニングを行った。（２）トランスジェニックフィッシュの開発：名古屋大学で単離された Tol1・Tol2 トランスポゾンを用いて、種々の神経回路に蛍光タンパク質を発現するジーン・エンハンサートラップ法の開発を行った。
【結果】（１）ro の責任遺伝子は contactin1b で、遺伝子内に塩基の欠失が認められた。ro と野生型の脳で大きな組織の変化の違いは認められなかった。（２）遺伝子導入（DNA/RNA インジェクション）による胚・稚魚の生存性は向上しており系統の確立を期待している。

P7

小型魚類を使った全身組織切片
－メダカから金魚－

北里大学医学部解剖学[1)],東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻[2)]
山口大学医学部第二病理学[3)]
西槇 俊之[1)],勝村 啓史[1)],尾田 正二[2)],小賀 厚徳[3)],埴原 恒彦[1)],太田 博樹[1)]

【目的】小型魚類の全身組織切片の作製は、早期の融解性や耳骨など硬い骨が影響するため、極めて難しい。我々はメダカなどにおいて良好な全身組織切片を作製している。今回、この技術を生かし、金魚など数種類の小型魚類に関して全身組織切片作製を試みた。

【方法】供試魚として、メダカ(*Oryzias latipes*)、ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)、カダヤシ(*Gambusia affinis*)、タナゴ(*Acheilognathus melanogaster*)、金魚(*Carassius auratus*)等を使用した。供試魚は苦痛を与えないように麻酔し、Davidson 液で固定後、常法に従って厚さ 5μmのパラフィン縦断面の全身組織切片を作製した。作製した全身組織切片は、HE 染色および免疫組織化学染色などを施し、光学顕微鏡下で観察した。

【結果および考察】メダカ、ゼブラフィッシュ、カダヤシなどは Davidson 液を使用して、約一週間の固定で良好な全身組織切片が作製できた。これに対し、体型が大きく異なるタナゴ、金魚等では約 2 倍以上の固定時間を必要とした。小型魚類の全身組織切片は、研究の他、学校教育における理科教材としても十分に活用できると考える。

P8

Sphingobium sp. MI1205 株由来のハロアルカンデハロゲナーゼ LinB_MI における beta-HCH 分解活性に重要なアミノ酸残基の同定

静岡大学 技術部　森内 良太

【目的】gamma-HCH 分解細菌 *Sphingobium* sp. MI1205 株由来のハロアルカンデハロゲナーゼ LinB_MI は、*Sphingobium japonicum* UT26 株由来の LinB_UT と全 296 アミノ酸残基中わずか 7 アミノ酸残基の違いにも関わらず、高い beta-HCH 分解活性と beta-HCH 分解産物をさらに次の物質に変換する、LinB_UT にない活性を有していた。そこで本研究では 7 つのアミノ酸残基のうち、どのアミノ酸残基が 2 つの酵素活性の差異により大きな影響を与えているのか検討した。本研究は、活性強化のための重要な基礎データになると考える。

【方法】部位指定変異導入法を用いて変異酵素を作製し、beta-HCH 分解活性測定を行った。

【結果と考察】活性測定の結果、7 アミノ酸残基のうち 3 つのアミノ酸残基が特に重要であること、酵素活性は段階的に変化すること、変異を導入する順番により 1 アミノ酸残基の置換で酵素活性が劇的に変化するポイントがあることが示された。

【参考文献・資料】Ito,M. et al. *Arch. Microbiol.* 188:313-325 (2007)

P9

環形動物エラコより抽出した
バナジウム結合タンパク質の解析

広島大学技術センター　山口 信雄

【目的】海産の原索動物であるホヤの一部と環形動物のエラコは遷移金属元素であるバナジウムを高濃度かつ選択的に濃縮しているが、その生理的役割や濃縮メカニズムは未解明な部分が多い。現在、スジキレボヤのバナジウム濃縮システムの研究は進んでいるが、エラコに関してはバナジウム濃縮に関わる因子がまだ見つかっていない。そのため、エラコのバナジウム結合タンパク質の探索からバナジウム濃縮の仕組みと生理的意義を探る。
【方法】Metal Ion Affinity Chromatography 法により、エラコの鰓冠からバナジウム結合タンパク質を分離した。このタンパク質を HPLC にて精製し、ポリクローナル抗体を作製した。エラコ鰓冠 cDNA ライブラリーからイムノスクリーニング等によって該当する遺伝子配列を同定し、遺伝子産物の機能を推定した。
【結果】18 kDa のタンパク質が検出され、Nucleoside Diphosphate Kinase (NDPK)と高い相同性を示した。遺伝子産物は Kinase 活性を持つことを確認した。
【考察】バナジウム濃縮に関わるタンパク質をさらに探索し、濃縮経路等を推定したい。

P10

7 テスラ MRI によるマウス・ラットの脳アトラス作成

岩手医科大学 医歯薬総合研究所 動物研究センター　高橋 智輝

【目的】　マウス及びラットの脳を 7 テスラ(7T)MRI 装置で撮像し、脳アトラスを作成する。
【方法】　マウス(IQI)及びラット(SD)を深麻酔下で、4%パラホルムアルデヒドｰリン酸緩衝液による全身の灌流固定を行った。灌流固定後のマウス及びラットは、本学超高磁場先端 MRI 研究センターの協力を得てヒト用 7T MRI 装置（GE 社製）による頭部撮像を行った。撮像後、開頭して脳を摘出し、それぞれの脳割断像はデジタルカメラで取得した。
【結果】　MR 画像は 200 ミクロン幅で連続撮像を行った。そのため、撮像完了まで約 2 時間要したが、これにより高精細な立体画像構築が可能となり、任意の方向、断面の画像を取得することができた。
【考察】　7T MRI 装置は MR 顕微鏡とも例えられ、非常に高精細かつ鮮明な画像を得ることができる。撮像した MR 画像は、脳割断像と比較しても形態学的同一性が確認できた。そのため、7T MR 画像は脳アトラスの原図として有用であると考える。

P11
マイクロＣＴを利用した心臓の３次元再構築法

東京大学 分子細胞生物学研究所 心循環器再生研究分野　横田 直子

【目的】ヒトの心疾患の解明･治療を目指して､基礎研究では様々な生物の心臓が供試されている。生物の心臓を理解するためには、内部構造を含むその形態を立体的に把握することが重要である。いろいろな生物の心臓をマイクロＣＴで撮影し３次元再構築する方法を検討した。
【方法】2012 年 5 月に共通機器として uCT35(日本電子)が分生研に導入された。生物試料のマイクロＣＴ撮影は、これまで骨・軟骨組織が一般的であり、心臓などの軟組織の撮影には撮影プロトコールが用意されていなかった。そのため、所属研究室で心臓の発生・進化研究に供試している生物（イカ、ヤモリ、肺魚、マウス）の心臓を使い、固定方法･造影剤の選択などの条件検討を行った。さらに撮影データから内部構造の高解像度２次元画像と３次元再構築像をライブラリー化した。
【結果】摘出した心臓サンプルをエタノールまたはメタノールで固定し､造影剤リンタングステン酸またはヨウ化カリウム溶液に浸漬後、撮影した。剣先イカの本心臓と成人マウスの心室では造影剤が内部に浸透しにくいことが、切片像との比較から明らかになった。
【考察】uCT35 で､様々な生物の心循環器の構造を示す高解像度画像が取得できることが分かった。今後は、抗体染色法や血管造影剤などを利用した特異的な組織を抽出する撮影法を確立したい。

P12
小動物 SPECT/CT FX3300 の性能評価に関する研究

熊本大学生命資源研究・支援センターアイソトープ総合施設　後藤 久美子

【目的】生命科学分野において、最近、分子イメージング技術として注目されている小動物用 SPECT/CT システムが当 RI 施設へ導入されたので、その性能評価を行い有用性について検討したので報告する。【方法】ピンホールコリメータ付き対向 2 検出器型ガンマカメラ SPECT と X 線 CT を有する装置(GM-I 社製 FX3300)に対して、空間分解能測定用ファントム及び Tc-99m 過テクネチウム酸ナトリウムによるマウスの SPECT イメージと X 線 CT を撮像した。【結果】シングルピンホール SPECT の空間分解能は約 0.6 mm、マルチピンホールは約 0.8 mm であった。マウスの SPECT イメージでは、Tc-99m の甲状腺や膀胱への集積状態が明瞭に描出でき､X 線 CT イメージとの重ね合わせでは､RI 集積臓器や組織の機能と微細な形態との同時情報の解析が容易になることがわかった。【考察】今回の結果より、本装置は高分解能 SPECT による機能的情報へ高精細 X 線 CT による解剖学的情報を融合でき､複数の実験動物を犠牲にすることなく非侵襲的かつ経時的に生きたまま生体情報を画像化できることがわかった。本システムは、今後、疾患のメカニズムや病態の解明あるいは創薬の研究開発などの動物実験モデル化に有用と思われる。

P13

熱湯およびズダンブラックＢ処理法を応用した多重蛍光免疫染色の一例

島根大学 医学部法医学講座[1)]，高知大学 教育研究部病理学講座[2)]
島根大学 医学部環境予防医学講座[3)]　梅 とも子[1)]，林 芳弘[2)]，山根 史嗣[3)]

【目的】Thymidylate Synthase（TS）とKi-67蛋白は、ヒト膵および乳腺腫瘍組織では、同一細胞核において共発現することが示唆され(1)、今回、多重蛍光免疫染色によりこのことを証明した。【方法】検体はヒト腫瘍組織、一次抗体は抗 TS(clone TS 106)および抗Ki-67(clone MIB-1)、二次抗体の標識蛍光はCy3(赤)とAlexa Fluor(AF)488(緑)、核染色はDAPI(青)を用いた。まずTS・Cy3蛍光免疫染色後、それに使用した抗体の活性を消失させるために、クエン酸緩衝液で90℃15分間熱湯処理をし、その後、Ki-67・AF488を行った(2)。また、ズダンブラックBで後染色を行い自家蛍光を減退させた(3)。【結果】共焦点レーザー顕微鏡による撮影画像上でTSとKi-67蛋白を共発現している核が黄色として明瞭に確認できた。【参考文献】(1)梅とも子ほか(2008)：ヒト腫瘍における Thymidylate Synthase（TS）とKi-67発現解析,生物技術研究会報告第19号 (2)鈴木孝夫ほか(2004)：熱湯処理を用いた改良型蛍光抗体法多重染色,医学検査 53(2) (3)林芳弘(2006):病理組織標本を用いた多重蛍光染色法の最適化と自家蛍光減退法の開発,生物技術研究会報告17号

P14

ラット大脳皮質における興奮性神経細胞の多重免疫蛍光染色

生理学研究所 技術課　山口 登

【目的】ラット大脳皮質前頭前野の5層領域には多様な興奮性神経細胞が含まれることが知られている。そこで、興奮性細胞の分類を目的に、これまでに興奮性細胞の一部をラベルすることが報告されている数種の分子マーカー（「CTIP2」、「ppCCK」など）を用いて、興奮性細胞（細胞体）におけるそれらの分子マーカーの発現様式を観察した。
【方法】興奮性細胞と抑制性細胞を区別するため、全ての神経細胞をラベルする「NeuN」マーカーと抑制性細胞のみを蛍光ラベルしたトランスジェニックラット（VGAT-Venus）を用い、「NeuN」発現細胞から「Venus」発現細胞を除いた細胞を興奮性細胞と特定した。層構造の確認には各層で発現量の異なる「VGluT2」マーカーを用い、目的の5層領域を特定した。本実験で蛍光ラベルするのは「分類用分子マーカー（CTIP2 など）」、「NeuN」、「Venus」、「VGluT2」の4種類であり、一般的な3重染色では観察が困難である。そこで、その内の「Venus」と「VGluT2」マーカーを同色（緑色）で重ねて染色する方法を用いた。
【結果】上記の方法により、興奮性細胞における目的の分子マーカーの発現様式が観察できた。

P15

高架式十字迷路試験装置の製作

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部　北池 秀次

【目的】高架式十字迷路試験は、実験動物（マウス、ラット）を用いた抗不安薬の不安関連行動評価法として開発され、広く使用されている。筆者はこれまでに明暗往来試験装置を製作し、目的に応じた不安関連行動の評価を進めている。画像抽出から結果の出力まで研究内容によるカスタマイズの必要性に対応させることを目的に本装置を製作した。
【方法】高架式十字迷路は、寸法や面積の測定を効率的に行うため、CAD で設計し、非晶質アクリル樹脂を機械加工して組み立てた。トラッキング・システムは、CMOS 赤外線 USB カメラ、周辺機材（照明、照射計）、データ計測・解析装置、解析プログラム、データ処理用自作プログラムで構成する。
【結果】マウスをニュートラルゾーンに置き、試用実験を行った結果、計測項目について良好な結果を得ることができた。
【考察】装置の自作は、研究内容によって柔軟な対応が可能となり、要素機能を必要に応じて追加することができる。これからも、試験デバイスの拡張を行っていきたい。

P16

帯電防止位相板作製のための一つの試み

生理学研究所 技術課　小原 正裕

【目的】位相差電子顕微鏡に使用する炭素薄膜位相板は、60 年来帯電問題を抱えている。位相板に帯電が起きると像がぼけて十分な解像度が得られず、正常な標本の形状が観察できない等の問題が生ずる。この帯電の原因として、ゴミの付着、炭素薄膜と支持基板との接触問題、炭素薄膜自体の状態などが考えられているが、今回はその中の一つである炭素薄膜自体の問題について検討したので報告する。
【方法】位相板のコア膜である炭素薄膜（以下、コア膜）は、マイカ板上に真空蒸着して形成する。このコア膜作製時に高温にすることで、導電性が良いグラファイトが形成できないかと考え、約 400℃で加熱したまま真空蒸着する加熱装置を試作した。
【結果】コア膜上の２点間の抵抗値を測定する簡便な計測法によると、室温で蒸着したコア膜が十数 kΩだったのに対し、400℃加熱したコア膜の抵抗値は数 kΩと僅かだが改善が見られた。しかし、この程度の抵抗値の改善が直ちに位相板の帯電問題の解決に繋がるわけではなく相変わらず帯電問題は残った。このことから帯電問題には複雑な要因が絡み合っているものと考えられ、今後はこの帯電要因をさらに検証していきたいと思う。

P17

好気性超高温発酵菌叢を用いた家畜糞尿処理技術の構築 : 調査手法の検討

東京大学 大学院農学生命科学研究科　高橋 友継

【目的】感染症の多くは糞尿を介して感染が広がる。家畜腸管感染症は、単に飼育農家に深刻な経営的損失を与えるのみならず、人へも感染することが多く、社会的損失も多い。そのため、多様な飼養施設に柔軟に適用できかつ安価に設置できて維持管理も安価な統御処理システムの開発が必須である。そこで今回は、好気性超高温発酵菌叢を用いた家畜糞尿処理技術の構築を目標とし、通気環境と発酵温度・水分除去効率との関係を調べた。
【方法】農畜産現場で廃棄される発酵原料（家畜糞尿、腐食飼料、下水汚泥など）と種菌（超高温発酵産物）を大型重機により混合し、底面送風式発酵槽での発酵処理（最高 117℃）を繰り返す過程で、通気環境（ブロアーからの送風量、混合物中の通気量）が発酵温度・水分率の変動に及ぼす影響についての調査手法を精査した。
【結果と考察】発酵槽内の混合物の容積は約 50m^3、重量は約 40t であり、初期の混合状態は極めて粗く、定期的な再混合により徐々に均一化が進んだ。これらの発酵状態の把握には、発酵槽内の様々なポイントでの通気量・温度・水分率の連続記録が必要である。

P18

Image J マクロを用いたシナプス計測の自動化プログラムの試み Part２

生理学研究所 技術課　前橋 寛

【目的】前回はシナプス部位の時間的形態変化を求める為に行ったが、今回はシナプス部位のみを光刺激する実験の予備段階として、2 光子顕微鏡を用いたマウス脳の樹状突起の断層像から得られたプロジェクション像からシナプス構造部分の選択手法を検討している。
【方法】前回はマニュアルで矩形（Rectangle）選択しシナプス部位を選択したが、今回は自動選択できるように試みた。Image J で樹状突起部を 2 値化し、細線化（Skeletonize）した。短い枝分かれを除去し、大きい枝の交点の位置を求め、樹状突起に沿った枝に分割した。一定より大きいものをナンバリングし、選択の再呼出しができるように ROI Manager に記録した。ナンバリングされた枝に垂直方向に、ラインプロファイルを求め、ピークと谷を求めながらシナプス構造を検出した。
【結果および考察】シナプス構造と樹状突起の間に輝度変化のないものについては選択ができなかったことや、近接するシナプスについては一つになってしまったことがあり、さらなる、他の方法を検討する必要がある。

P19

Wii Board を使った重心移動計測プログラムの作成

生理学研究所 技術課　伊藤 嘉邦

研究室では、モーションキャプチャ・システムを使用して人間の動きを捉えているが、準備に時間がかかり、またシステムが設置された部屋でしか測定が行えないため、より簡便に計測できるシステムが必要とされていた。そこで、(株) 任天堂の Balance Wii Board を重心動揺計として用いて、人間の重心の移動を計測するプログラムの作成を行った。

プログラムの開発は、Visual Studio 2010 と C#を用いた。Wii Board と Windows PC 間は、Bluetooth インターフェースで通信を行うことができ、フリーのライブラリ関数を用いることで重心の計測を簡単に行うことができた。プログラムは、タイマーボードの割り込みを用いて、10msec 間隔で最大４台の Wii Board のデータを同時に取得して記録できるようにした。実験では、２台の PC を用いて、同時に８人の被験者の重心の移動を計測することができた。

【参考】神奈川工科大学情報学部　小阪研究室　http://www.kosaka-lab.com/tips/

P20

Dual fMRI 実験用の相互会話システムの製作

生理学研究所 技術課　伊藤 嘉邦

【目的】

Dual fMRI 実験において、MRI 装置内の２人の被験者間で、マイクとヘッドホーンを用いて相互に会話を行うことができるが、その時 MRI のスキャンの音がマイクを通して相手のヘッドホーンに伝わることは避ける必要がある。Dual fMRI 実験では、２台の MRI 装置を同期させるのに PC のプログラムによるパルス信号を使用している。この同期用のパルス信号を用いて、MRI のスキャン時に消音(MUTE)を行える装置を製作した。

【方法】

消音装置は、電子ボリュームの消音機能を用いた。電子ボリュームの MUTE 端子にパルス信号を入力することで消音を行うことができた。また、プログラムの改造を行い MRI の同期パルスと電子ボリュームの MUTE 信号は別々に出力するようにし、MRI のスキャン信号の前後 100msec を含めた期間は消音を行うようにした。

【参考資料】 (株) AUDIOWORKS http://audioworks.ocnk.net/product/2

P21

GFPを用いた学生実験の検討

東京大学 理学系研究科 技術部　佐伯 喜美子

物理学専攻3年生の生物物理学生実験を担当している。学生実験では、生体の重要な構成成分である核酸とタンパク質の性質を調べる基本的な実験を行っている。今年度、蛍光顕微鏡を導入し、実験内容の改訂を行った。

昨年度までは、核酸の実験では緑色蛍光蛋白質（GFP）の遺伝子を用いて、核酸の制限酵素地図と大腸菌によるタンパク質の発現、およびGFPとその変異体(YFP)の吸収スペクトル測定を行っていた。タンパク質の実験では、蛋白質の流体力学的特性の実験として分子ふるいクロマトグラフィー、および、分光学的特性に関してタンパク質の紫外部吸収スペクトル測定を行っていた。

今年度は、蛍光顕微鏡を導入することにより、実験内容の検討を行った。蛍光顕微鏡の扱い方をマスターするとともに、GFP を発現している大腸菌を蛍光顕微鏡で観察する実験を導入した。GFP の遺伝子を用いた実験、GFP 遺伝子の発現、GFP のスペクトル測定、GFP を発現している大腸菌の顕微鏡観察というように、GFP を用いた一連の実験を行えるようになった。

P22

MicroCTによるマウス胚画像解剖のための簡便プロトコールの検討

国立遺伝学研究所 技術課　前野 哲輝

【目的】当研究所のX線μCT装置(ScanXmate-E090S コムスキャン社)によるマウス胚3次元的画像解剖のための基本プロトコールを確立する目的で、材料採取方法、固定法、染色方法、撮影条件、保管方法のそれぞれについて基礎的な検討を行った。

【方法】胎齢14.5日マウス胚を材料とし、固定液は2種類（4%PFA、Bouin液)、染色液は３種類(Lugol 液、I2E 液、EPTA 液)を検討した。染色終了後、標本はアガロースゲル内に包埋保管し、その後の保存状態を確認した。画像解析には DICOM ビューアソフト OsiriX を使用した。

【結果】比較的短時間で高精細な画像を得ることができた。Lugol染色は浸透性、EPTA染色は形態維持に優れていた。数ヶ月の保管による、画質への影響は少なかった。

【考察】今後は、各発生段階の正常アトラスおよびデータベースの構築を計画している。また、マウス胚にこだわらず、他の生物材料への活用も進めている。

【参考文献・資料】Brian D Metscher: BMC Physiol. 2009; 9: 11.

P23

質量分析装置を用いた高感度アミノ酸分析方法の開発

基礎生物学研究所 技術課　森 友子

【目的】所属する生物機能情報分析室では、依頼分析として、ニンヒドリン法によるアミノ酸分析を行っている。アミノ酸分析が担ってきたのは、タンパク質の加水分解物のアミノ酸組成分析によるタンパク質の同定と遊離アミノ酸の定量である。前者は質量分析装置等の機器の発展により現在ではニーズが無くなった。後者の需要はあるが、数 nmol のサンプルが必要なニンヒドリン法では感度が不足し、要望に対応出来ないことがある。そこで、質量分析装置を用いることで、高感度にアミノ酸分析をする方法を開発したので報告する。
【方法】いくつか知られているアミノ酸の誘導体化方法の中から、簡便な操作で感度良く検出できる方法として、6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate(Accq Tag、ウォーターズ社）を用い、蛍光誘導体化を行った。分析は LC-MS （waters 社製 nanoAcuityUPLC,Q-TOF Premier)、カラムは nanoACQUITY UPLC BEH C18(70um x 100mm)を用い、移動相 A:0.1%ギ酸、移動相 B: 0.1%アセトニトリルのグラジェント分析を行った。
【結果・考察】LC-MS を用いて、全てのアミノ酸の一斉分析は出来なかったが、少なくとも 11 種のアミノ酸は 100fmol で定量ができることを確認した。

P24

遠心機の利用講習会について

滋賀医科大学 実験実習支援センター　小山 由起子

【目的】大学の共同利用機器施設である実験実習支援センターには様々な機器が設置されているが、取扱が難しく使い方を誤ると大事故につながる機器もある。なかでも遠心機はその最たる物なので、遠心機の事故を防ぐために、啓発活動を行うことにした。
【方法】まず、センターの広報誌である「実験センター通信」で特集記事を組み、全学に配布した。その後、大学院生対象の講習会で、遠心機の利用講習を不定期に行っていた。しかし、講習会を行った直後は、事故が起こらなかったものの、しばらくするとまた事故が起こるようになった。そこで、１０年ほど前からは、毎年定期的に複数回講習会を開催することにした。講習会は講義だけでなく、実際に試料のバランスをとるところから遠心操作までを参加者に行ってもらい、正しい遠心機の使い方を体得してもらっている。
【結果】最近では事故が起こっていないので、一定の効果が上がっていると思われる。
【考察】機器の利用に関する重要事項は、対面で頻繁に行うことが必要である。そのほか、最近の課題として、増加する留学生への対応を迫られている。
【参考文献・資料】実験センター通信

P25

pH が放射能測定に及ぼす影響について

基礎生物学研究所 技術課　飯沼 秀子

【目的】RI を用いた生物学実験では、^{3}H や ^{14}C などの低エネルギーのβ線を検出・測定するために液体シンチレーションカウンタ（LSC）が使用されている。LSC での測定では、サンプルの pH・組成・含水率などが測定結果に大きな影響を与えると言われている。

また、LSC での測定は、実験廃液や排水の RI 濃度測定の際にも用いられ、放射線施設を管理する上でも重要である。そこで、我々の施設においてよく使用する親水性液体シンチレータを用いて、サンプルの pH が測定効率に及ぼす影響を調べた。

【方法】今回は、以下の条件で作製した試料を LSC で測定し比較した。

①放射能：^{3}H　2x10^{5} dpm、②含水率 10 %：サンプル（RI 水溶液）1 ml と液体シンチレータ 9 ml、③サンプルの pH:pH2〜pH12、④液体シンチレータ 3 種類:Ecosinti XR、Monofluor、Ultima Gold、⑤試料容器：20 ml バイアルビン、⑥測定：Packard 2700TR、10 分測定。

【結果・考察】サンプルの pH による測定効率の差もみられたが、親水性液体シンチレータの種類による影響の方が大きかった。今後は実際の実験に使用しているいろいろな組成の試料についても測定効率を調べたい。

P26

プロテインシーケンサトラブル対処法

東京大学 農学生命科学研究科 附属技術基盤センター先端系技術室　黒岩 真弓

【目的】タンパク質の機能構造解析に重要なアミノ酸配列を決定する装置であるプロテインシーケンサをユーザーに提供するとともに管理することや依頼分析も受け付けている。メーカーの都合で再来年度半ばからサポートがなくなることに伴い、できるだけ自力でメンテナンスすることが必要である。今回は日々起こりがちなトラブルの紹介ならびにメンテナンスの方法等について報告する。

【方法】今回はトラブルの多い 491cLC（1-5 pmol のアミノ酸配列の分析感度をもつ）のメンテナンスについて中心に報告する。(1)トラブル(a)本体送液部(b)カラム(c)PC(d)HPLC など。(2)その対処法

【結果】トラブル対処に関してはメーカー以外に他機関装置担当者との情報交換が非常に有益である。トラブルが増えたおかげで装置についての理解は深まったと思われる。

【考察】今後はトラブルを避ける方法を検討したい。今後もメーカーエンジニアならびに全国の装置担当者と情報交換していきたい。

【参考文献・資料】 ABI 社製プロテインシーケンサ各種取扱説明書

P27

次世代 DNA シーケンサーによる *de novo* RNAseq が切り開く非モデル生物のゲノミクス

基礎生物学研究所 技術課　山口 勝司

【背景・目的】次世代 DNA シーケンサーによる *de novo* RNAseq 解析は、これまでのマイクロアレイによる発現解析を凌駕する性能を持つ。特にゲノム情報の乏しい非モデル生物種において、「遺伝子」の発現量情報が得られるばかりでなく、発現遺伝子の配列情報をも同時に得ることができる。発現遺伝子数は生物種によりそれほど変わらないため、ゲノムシーケンスと異なり解析の難易度がゲノムサイズに依存することもない。一方、新規な方法であるがゆえ、今現在、手法として十分確立しきれていない部分が多々存在している。本報告において、*de novo* RNAseq とは何かを紹介すると共に、手法改良例を報告する。
【方法・結果・考察】発現遺伝子の正確な配列情報を得るために、より長いサイズのシーケンスライブラリーを構築することが重要と考えている。サンプル RNA の断片化処理、ライブラリー構築の各ステップの条件を検討し､既存法では 140base ピークに対して 250base ピークのシーケンスライブラリーを作成することが可能となった。既存法と比較して問題点も見当たらず、改良法として完全に置き換えることが可能と考えている。

P28

森林の種子生産量測定方法と最近 7 年間の結果

東京大学 演習林 生態水文学研究所　澤田 晴雄

【目的】森林を構成する樹木種の種子生産特性を知ることは、森林動態の予測や、種子を食物とする生物の生態を解明していく上で必要な基礎知見であり、長期間のデータ蓄積が必要である。本報では生態水文学研究所の赤津研究林に 2004 年に設置した調査区での種子生産量測定方法の概略と、最近 7 年間の測定結果を報告する。
【方法】森林の種子生産量測定は、一般的に用いられているシードトラップ法により行った。同方法は 100m×100m の方形の調査区に 20m 間隔で計 25 基のシードトラップ（円錐状で口径面積 0.5 ㎡）を設置し、その中に落下する内容物を 1 カ月間隔で回収し、その中の種子を取り出して樹種毎に種子数を記録し､毎月の種子落下密度を測定するものである。
【結果】総種子生産量は 12,080 個/㎡であった。年平均種子生産量が 10 個/㎡以上の樹種は 9 樹種あった。総種子生産量、 9 樹種とも種子生産量の多い年と少ない年があった。
【考察】アオハダ、コハウチワカエデなど 4 種は 2005 年から隔年周期で種子生産量の多い年が見られた。また、2009 年から広まったブナ科萎凋病により本調査区のコナラの 13%が枯死し、コナラ、ヒサカキ、サカキの種子生産量に影響を与えている可能性が示唆された。

P29

モデル植物研究支援室の整備状況

基礎生物学研究所 技術課　諸岡 直樹

【目的】モデル植物研究支援室ではいくつかの温室や栽培室を維持している。これらの施設・設備の中には導入されてから 30 年近く経過したものも少なくなく、研究内容の変化に合わせて、古くなった設備の更新や改修を行う必要に迫られている。これらの事情を踏まえつつ、私が当支援室に異動後の 2 年間で行った主な整備内容について報告する。

【実施内容】

① ガラス温室の改修・・・築後 30 年を経過したガラス温室の改修とインテリジェント化

② プレハブ型恒温室の更新・・・メーカー撤退により維持が困難、高輝度化と CO2 対応

③ 温度監視システムの導入・・・各温室・栽培室の温度を Web とメールで遠隔監視

④ 最新型インキュベータの導入・・・大型から小型まで各種サイズのものを更新

【考察】単純な改修作業だけでなく、設備の高度化も併せて行っている。使いやすくかつ管理しやすい設備を目指して整備を進めている。予算獲得など苦労する点なども多々ある。これらについて、同じような設備を維持管理している方からのアドバイスなどをいただけるとありがたい。

P30

応用動物科学系生産フィールド実習（夏期）におけるバター・チーズ製造実習紹介

東北大学大学院 農学研究科
西村 順子，山本 理恵，丹内 正樹，川井 泰，北澤 春樹，齋藤 忠夫

東北大学農学部の 1 学系である応用動物科学系では、9 つの分野（研究室）から構成されており、研究室毎に約 1 ヶ月程度で 3 年次の学生実習を担当している。また、乳牛や肉牛の育成管理を主体とした生産フィールド（農場）実習を、春、夏および冬の 3 期で行っている。動物資源化学分野では、夏期農場実習でバター・チーズ製造実習を担当しており、実際に食品製造を行うことによって、畜産物の利用・加工についての知識を深めてもらうことを目的としている。学生実習での本格的なナチュラルチーズの製造は他大学では行っておらず、本実習は国内唯一のカリキュラムである。

講義で学んだ内容を実習で行い実際に食味することで、学生の「食」に対する意識関心の向上が覗える。本発表では、バター・チーズ製造実習の概要と製造工程を紹介するとともに、技術職員の実習支援について報告する。

P31

「ニホンミツバチ」の屋上飼育紹介と地域貢献事業への教材化

浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座　外山 美奈

「ニホンミツバチ」を研究に使用するため、浜松医科大学の講義棟の屋上で、「ニホンミツバチ」を飼育している。屋上は風が強いので、蜂が巣箱に戻って来られるか心配し、強風対策を施したり、また暑い夏には巣箱の外にほとんどの蜂が出て来てしまい、逃去の習性をもつ「ニホンミツバチ」に逃げられるのではないかと、通気をよくする対策を施したり、スズメバチ襲来の季節には、スズメバチ対策を強化したり、様々な工夫をしながら飼育しているので、その様子を紹介する。

また、1.「ニホンミツバチ」はセイヨウミツバチに比べて攻撃性が少なく気性がおとなしいので扱いやすい、2.女王バチを中心とした階級社会であり昆虫の社会性を学ぶのに適している、3.蜂蜜という美味しい副産物も得られ、生徒の興味をひきやすい、という理由で中高生対象の地域貢献事業の教材に適している。そこで、「ニホンミツバチ」を用いた地域貢献事業を計画し実践したので、その様子も紹介する。

P32

動物実験センターでの職場体験の工夫と課題

生理学研究所 技術課　窪田 美津子，廣江 猛

【目的】動物実験センターでは毎年、中学生の職場体験を受け入れており、普段接することのない科学実験を体験し、研究への理解とその重要性に触れてもらう目的で、マウスの胚操作を主眼において実施している。職場体験をはじめてすでに数年経っているが、現在の体験内容が本当に中学生にふさわしいのか、あらためて確認することにした。
【方法】限られた時間の中で、できるだけ多くのことを体験してもらえるよう事前準備をする。体験時の生徒の様子を注意深く観察し、興味を持って取り組むことができているか確認する。体験終了後にアンケートをとり、生徒の意見や要望を聞く。実施した内容について、段取りや教え方に問題がなかったか、率直な意見を求め、検証した。
【結果と考察】胚操作は容易ではないが、失敗しながら何度も挑戦し、真剣に取り組めた。これまで安全性や倫理などを考え、直接動物には触れさせてこなかったが、マウスに直接触れたいという強い要望があり、安全な取り扱いをさせる方法を模索中である。アウトリーチ活動で、同様の事例を行っている機関からアドバイスをいただければ幸いである。

P33

オープンキャンパスにおける新たな手法による出展範囲の拡大

京都工芸繊維大学 高度技術支援センター　尾崎 誠

【目的】アイソトープセンターでは、学内の研究室とのコラボ企画を行い、オープンキャンパスにおいてブースを出展し好評を得てきた。今年度はさらなる”楽しい企画　”行うべく、新たな企画「元素分析」を考え出し出展内容を拡大し来場者への提供を行ったので発表する。
【方法】本学機器分析センターに設置してある電子顕微鏡「HITACHI S3000-N 型」の付属装置としてのＸ線スペクトル分析装置「EDAX」を用い、来場者の所持品の表面の元素組成を分析し、科学、特に元素についての興味を高めてもらった。また、前年までの企画「ザ・透視（Ｘ線透視装置)」との同時開催により相乗的に科学知識の啓蒙をはかるとともに、本来のオープンキャンパスの余興企画としての使命をはたした。
【結果】来場者の反応はたいへんに大きく、また、学内の別セクションの職員所持品の元素分析をこうことができ、学内一般職員への啓蒙効果を得ることができたことは予想外の良い結果となった。
【考察】次回は少しだけ大きな規模で実施を行い、少しだけ高い啓蒙効果を狙いたい。

P34

児童を対象としたマッスルセンサーロボット操縦機

核融合科学研究所 広報部理科工作室　山内 健治
生理学研究所 情報処理発信センター 広報展開推進室　小泉 周
生理学研究所 技術課　戸川 森雄，永田 治

【目的】核融合科学研究所では、子どもに科学に対する興味を持ってもらおうと地域の施設に出向いて理科実験・科学工作を指導し、また所内のキッズ・エネルギーコーナにもプラズマ理解を目的とした教材を自作展示している。
【方法】今年度は生理学研究所で開発されたマッスルセンサーを児童の腕に取り付け、その信号でアームが動くロボットを製作し、展示するとともにイベントで実演を行った。
【成果】このロボットは昨夏に中津川市で全国から中学生 70 名を招き、３泊４日で開かれた岐阜サマーサイエンススクールに持ち込み実演を行った。生徒たちは、自分の腕に電極を取り付けて力を入れるとアームが動くことに感動していた。また自分の筋肉の表面に電気が起きていることを初めて体験し不思議に感じていた。
【改良】関節ごとに取り付けたセンサーの信号で多関節のアームが動くように改良したい。

P35

技術職員の大学等連携支援事業活動について

高エネルギー加速器研究機構 素粒子原子核研究所　山野井 豊

【目的】高エネルギー加速器研究機構（KEK）では、加速器科学に関する教育、人材の育成、基盤技術開発を目的とした、加速器科学総合支援事業を行っている。平成 24 年度、その中の大学等連携支援事業として教員が担ってきた「最先端工学技術に関する出前授業」の一部を技術職員が行うこととなった。KEK にとっては、将来の技術者への授業を通して、技術職員の教育スキルの向上を図ることを目的とした。

【方法】対象は高等専門学校専攻科 1 年生（大学課程 3 年生相当）の授業科目の一つとして講義を行った。前期計 8 週の内、技術職員は 6 週分の講義を受け持つことになった。シラバスの作成、講義、課題の作成、成績評価を行い、夏季休業期間に選抜した受講生 2 名に対して、KEK の研究現場の説明を行った。

【結果】受講生および講師に対してアンケートを実施し、授業内容と方法についての評価を行い、技術職員の教授スキルの向上に寄与した。

【考察】技術自慢にならずに、受講者に興味を持ってもらえる加速器技術の教授方法を考える上で非常に良い機会であった。

P36

BMI を体験的に学ぶための理科学教材の開発

生理学研究所 技術課　永田 治，戸川 森雄，佐治 俊幸，吉村 伸明

視覚などの感覚や運動など脳の働きや体の動きは、電気信号によって伝えられ実行される。その基本的な仕組みを体験的な実験を通して小・中・高校生に伝えるための実験機材は、安全性の面において慎重な扱いが求められるため、専用の理科機材を開発することは容易ではない。

その様な要求に対して、我々は小学校低学年からでも安全かつ容易に使用できる理科教材として簡易筋電位計測装置「マッスルセンサー®」を開発し、生体信号の動きを可視化するシステムを構築したが、これは先端的な研究であるブレイン・マシン・インターフェイス（ＢＭＩ）の基礎を体験的に学ぶための理科教材でもある。開発当初は、単純に筋肉の動き（電気信号）を豆電球と圧電ブザーによる光と音で視覚化するだけであったが、現在はよりＢＭＩとしての実験内容に近づけるため、複数チャネルによるロボットアームのコントロールも可能なシステム構成となっている。

P37

吉野川市山川町の民間薬調査

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 薬学系薬用植物園　今林 潔

【目的】徳島県の各地域に伝承される民間薬の調査研究の一環として、吉野川市山川町（旧麻植郡山川町）における民間薬調査を行った。

【方法】アンケート形式でのサンプル調査

【結果】701件、136品目の民間薬について回答があった。そのうち利用目的がわかっているものは549件、124品目であり、これらは阿波市阿波町や美馬市美馬町で調査した結果と類似し、つるぎ町一宇の調査結果とはかなり異なっていた。また、イシャイラズと呼ばれる民間薬について調査したところ、ゲンノウショウコが多かったもののその半数は用途がわからないと回答したものであった。以上のことから、山川町においても民間薬伝承は途切れつつあることが判明した。

P38

千葉大学技術職員の現状

千葉大学 医学部 環境労働衛生学　高見 美幸

【目的】千葉大学の技術職員はどの部局においても組織化しておらず、また、組織化の動きもない。技術職員の多くは単独で各研究室に配属され、研究室を超えた公的な交流はない。技術職員の業務内容やキャリア育成は所属する研究室に依存し、その内容は大きく異なる。技術職員の実態を明らかにするためにアンケート調査およびヒアリング調査を行った。
【方法】対象：学内の技術職員、調査方法：メールもしくは学内便、質問項目：技術職員の構成・業務内容・組織化の有無・業務上の問題点など。
【結果】人事評価、昇進昇級、研修、事務連絡、学内名簿に関する技術職員の問題点が浮き彫りになった。また、組織化に興味のある技術職員が多いことも分かった。
【考察】待遇改善や研修制度の充実、学内外の技術職員の交流に意欲的な者が多く、今後の技術職員の活性化に期待できる。技術職員は各種制度の確立が遅れているので、制度の整備を目指し、意欲的に働くことのできる職場環境を目指したい。

P39

JSONを利用したウェブサイト情報の抽出

基礎生物学研究所 技術課　中村 貴宣

【目的】　当研究所においての電子的サービスの一環として、研究所内で行われているセミナーや講演といった行事の一覧を提供している。これらの情報は、研究所のウェブサイトが使用しているデータベースから直接引用を行っていた。しかし、ウェブサーバが更新され、従来の方法ではデータを直接引用することができなくなってしまった。この点を改善するべく、別の形式でウェブサイト上の情報を取り扱う方法を模索した。
【方法】　更新後のウェブサーバでは、Movable Typeというコンテンツ管理システムによってウェブページの情報が管理されている。このシステムから情報を取り出す方法として、軽量のデータ交換フォーマットであるJSON形式を用いることにした。手順としては、まずMovable Typeで管理された特定のページにある情報をJSON形式で書きだすようにして、その後、JSON形式のファイルをスクリプトによって処理するようにした。
【結果】　結果として、JSON形式のファイルからでも情報を抽出することができるようになった。また、定期的にファイルへの書き出しを行うことにより、情報を最新の状態に保つことが可能になった。

P40

生物学研究者のための
機械工作逆引き動画テキストの作製

生理学研究所 技術課　佐治 俊幸

実験機器を自分で製作したい初心者は、どの加工機械を使えば希望する加工が可能であるかを知るためには、使用可能な全ての工作機器の知識が必要であり、最適な加工を行うためには、使用可能な全ての加工機械のテキストに目を通す必要に迫られる。機械工作の初心者に必要なのは、希望する加工に使用可能な加工機械は何であるかを知り、その上で、その加工機械の使用方法を解説することであると考える。これらを実現するために、逆引きテキストを作成した。このテキストには、動画を付加するため、より容易に工作方法が理解できると考える。

テキスト製作に至った経緯と、テキスト製作に関する工夫および苦労は、口演報告を行う。ポスター発表では、製作途上ではあるが、製作しているテキストを紹介するので、ご批判、ご意見、ご要望をお願いいたします。

P41

プレゼンテーションにおける視覚表現に関する研修への取組み

基礎生物学研究所 技術課　水谷 健

【背景】平成23年度末から24年度頭にかけ、プレゼンテーションの視覚表現に関する研修を、自然科学研究機構の技術職員に対して講演によって行った。技術職員からはアンケートをとっており、その結果に見られる傾向について、本研修の概略と併せて報告する。
【方法】研修は、核融合科学研究所技術部、国立天文台技術職員（三鷹）、岡崎三機関（基生研、生理研、分子研の各技術課）の３カ所で行った。講演時間は90分であり、1.背景の一般論、2.文字の一般論、3.色覚のバリアフリー、4.情報伝達と記憶、5.ビジュアル化、6.アニメーション、の６つのセクションで構成した。アンケートについては各セクションに対し、参考になった、ならない の他、プレゼンに対する意識調査等を行った。
【結果・考察】最も参考になったと回答があったのは、色覚のバリアフリー（60%）であり，少なかったのは、文字の一般論(36%)であった。発表が苦手、発表時に緊張する者の割合はいずれも８割弱であった。苦手の原因は、緊張、構成がまとまらないとする回答が多く、これらの対策とともに、要望の多いプレゼンの話術について、今後検討していきたい。

P42

「web サイトデザイン実技講習」の開催
―平成24年度東北地区国立大学法人等技術職員研修の経験から―

東北大学大学院医学系研究科 医学部 広報室　一條 肇

【背景・目的】学内でwebサイトリニューアル時の基礎的な知識の提供、担当の心構えなどについて質問が寄せられることが多いことや、ワーキンググループへの参加要請など、他部局においても需要があったことから、東北地区国立大学法人等技術職員研修で今までのweb サイトの運用経験に基づく話題の提供や簡単な実技講習などを行ってみることにした。
【方法】実際の制作現場で行われている、計画策定・レイアウトデザイン・配色などの作業を行う。また、個人・グループで取り組み、プレゼン発表まで経験することで、web 担当者としての対応や心構えなども身に付くよう心掛ける。最後に、２種類のアクセス解析の概要やリニューアル作業時にどう生かすか等についての解説を行う。
【結果・考察】参加者は他大学や所属先のサイトを改めて見直すなど、積極的に取り組んでいた。互いの作品を見ながら自然とディスカッションが始めるなど、活動にも広がりが見られた。今後は、アンケートの結果などを元に、より発展的な内容を扱うことや、PCやソフトウェアなどを使っての実作業なども取り入れると､さらに良い効果が出ると考える。

☆☆☆☆☆☆☆　編　集　☆☆☆☆☆☆☆

●生理学研究所 技術課 技術研究会委員会

山口 登，竹島 康行，吉友 美樹，村田 安永，山田 元，
石原 博美，小原 正裕

●基礎生物学研究所 技術課 技術研究会実行委員会

水谷 健，大澤 園子，小林 弘子，三輪 朋樹，松田 淑美，
諸岡 直樹，内海 秀子，西出 浩世